



SAVONIA

Sysmex XS-1000i –verenkuva-analysaattorin validointi

**Anna Keskinen
Elli Korhonen**

Opinnäytetyö

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Anna Keskinen ja Elli Korhonen	
Työn nimi Sysmex XS-1000i –verenkuva-analysaattorin validointi	
Päiväys 8.11.2012	Sivumäärä/Liitteet 51/2
Ohjaaja(t) Lehtori Sanna Kolehmainen	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu	
<p>Verenkuvan analysointi on terveydenhuollon yleisimpiä tutkimuksia. Verenkuvalla tarkoitetaan perusverenkuva tai täydellistä verenkuva. Verenkuvan analysointiin käytetään yleensä automaattisia verenkuvaa-analysaattoreita, joilla saadaan numeerista informaatiota punasoluista, punasolujen hemoglobiinista, valkosolumäärästä sekä verihiutaleista. Täydellinen verenkuvaa sisältää näiden lisäksi myös valkosolujen erittelylaskennan, jossa valkosolulajit tunnistetaan toisistaan.</p> <p>Validointi on osa laboratorion laadunhallintaa. Sen tarkoituksena on osoittaa menetelmän tai laitteen sopivuus käyttötarkoitukseensa. Otettaessa käyttöön uutta menetelmää, on tarkistettava sen soveltuvuus käyttötarkoitukseensa.</p> <p>Tämän opinnäytetyön tavoite oli selvittää ja saada tietoa, soveltuuko Sysmex XS-1000i –verenkuva-analysaattori käyttötarkoitukseensa, eli opetuskäyttöön. Tarkoitus oli validoida analyysaattori ja verrata tuloksia vertailulaboratoriona toimivan Itä-Suomen laboratoriokeskus liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) kliinisen hematologian laboratorion analyysitulosten kanssa. Validointi sisälsi myös analysaattorin toistettavuuden testaamisen. Toimeksiantajana toimi Savonia-ammattikorkeakoulu.</p> <p>Validointi toteutettiin vertaamalla Savonia-ammattikorkeakoulun Sysmex XS-1000i verenkuvaa-analysaattorin tuloksia Itä-Suomen laboratoriokeskus liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) hematologian laboratorion verenkuvatuloksiin. Toistettavuutta testattiin analysoimalla sama näyte useaan kertaan.</p> <p>Sysmex XS-1000i –verenkuva-analysaattorin ja ISLAB:n kliinisen hematologian laboratorion tulosten yhteneväisyyttä arvioitiin korrelaatiokertoimien ja regressiosuoran avulla. Analyysitulosten välillä havaittiin voimakasta korrelointia kaikkien parametrien kohdalla. Validointitulosten perusteella Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n tulokset ovat yhteneväisiä ja laite on käyttökelpoinen opetustarkoitukseen.</p>	
Avainsanat Validointi, validointiparametrit, laatu, verenkuvaa	

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Anna Keskinen and Elli Korhonen			
Title of Thesis Validation of Sysmex XS-1000i			
Date	8.11.2012	Pages/Appendices	51/2
Supervisor(s) Senior lecturer Sanna Kolehmainen			
Client Organisation/Partners Savonia University of applied sciences			
<p>Counting of the blood cells is one of the most common laboratory tests in healthcare. Automatic blood analyzers can be used for blood cell counting. Analyzers can offer a lot of quantitative information from red blood cells, haemoglobin, white blood cells and platelets. Complete blood count (CBC) contains also a differential count of white blood cells where the cell types are being detected from each others.</p> <p>Validation is part of the laboratory quality management. The purpose of validation is to prove the suitability of the method or analyser for its use. When bringing in to use a new method, its suitability for the intended use should be verified.</p> <p>The target of this thesis was to study and to get information about the compatibility of the Sysmex XS1000i-blood analyzer for its intended use, which is educational. The purpose of this thesis was to validate the Sysmex XS-1000i-blood analyzer and to compare its results of analysis to Eastern Finland Laboratory Centre federation (ISLAB) clinical hematology results. The cooperation partner in this thesis was Savonia University of Applied Sciences.</p> <p>The validation was carried out by comparing the Savonia University of Applied Sciences XS-1000i hematology analyzer results in ISLAB hematology laboratory blood count results.</p> <p>Sysmex XS-1000i hematology analyzer and ISLAB's clinical hematology laboratory results coherence was estimated by correlation factors and using regression line. Strong correlation was found between all parameters of the case. From this basis, it can be said that the analysing results between ISLAB and Sysmex XS100i are consistent and that the Sysmex XS1000i-blood analyzer is a suitable for its use.</p>			
Keywords Validation, blood cell counting, automatic blood analyzers			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO.....	6
2	VERENKUVA JA SEN ANALYSOINTI.....	8
2.1	Verenkuva	8
2.2	Verenkuva-analysointilaitteet.....	14
2.3	Sysmex XS-1000i.....	15
3	VALIDOINTI OSANA LABORATORIOTYÖN LAATUA	18
3.1	Laatu laboratoriotyössä	18
3.2	Laatu hematologisissa laboratoriotutkimuksissa	20
3.3	Validointi.....	21
4	TUTKIMUKSEN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYS	26
5	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS	27
5.1	Tutkimusmenetelmä	27
5.2	Sysmex XS-1000i:n validoinnin toteutus.....	27
5.3	Tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät	29
5.4	Tutkimuksen luotettavuus	31
5.5	Eettisyys	33
6	TUTKIMUKSEN TULOKSET JA TULKINTA.....	35
7	POHDINTA	42
	LÄHTEET	44

LIITTEET

Liite 1 Validointisuunnitelma

Liite 2 Toistettavuustulokset

1 JOHDANTO

Verenkuvan analysointi on terveydenhuollon yleisimpiä tutkimuksia. Verenkuvalla tarkoitetaan perusverenkuvaa (B-PVK) tai täydellistä verenkuvaa (B-TVK). Verenkuvan analysointiin käytetään yleensä automaattisia verenkuvaa-analysaattoreita, joilla saadaan numeerista informaatiota punasoluista, punasolujen hemoglobiinista, valkosolumäärästä sekä verihiutaleista. Täydellinen verenkuva sisältää näiden lisäksi myös valkosolujen erittelylaskennan, jossa valkosolulajit tunnistetaan toisistaan. (Martinlauri & Vilpo 2010, 249-252.)

Opetussuunnitelman mukaan bioanalytiikko tuottaa luotettavia laboratoriotutkimustuloksia, joita käytetään asiakkaan terveydentilan arviointiin ja terveyden edistämiseen. Bioanalytiikan opinnoissa yksi ammattispesifisistä kompetensseista on laatuosaaminen, johon kuuluvat laboratorion laatujärjestelmän, sisäisen laadunohjauksen sekä ulkoisen laaduntarkkailun tunteminen. Validointi on sisäistä laadunohjausta ja tärkeä osa laboratorion laatujärjestelmää. Luotettavaa laboratorioanalytiikkaa ei ole mahdollista tehdä ilman laatuosaamista. (Savonia-ammattikorkeakoulu 2011; Opetusministeriö 2006.) Tämän vuoksi on tärkeää, että myös opetuskäytössä olevien menetelmien ja analysaattoreiden laadulliset vaatimukset huomioidaan. Bioanalytiikko huolehtii työssään tutkimusvälineiden ja -laitteiden käyttökunnosta sekä suorittamiensa tutkimusten luotettavuudesta ja laadunvarmistuksesta, johon myös validointi sisältyy. Laadunvarmistuksella tarkoitetaan toimenpiteitä, joiden avulla varmistetaan laboratoriopalvelun paras mahdollinen laatu. Validoinnilla tarkoitetaan toimenpiteitä, joilla osoitetaan menetelmän sopivuus käyttötarkoitukseensa. Validointi on laboratorion laadunhallinnan kulmakivi ja sillä on suora yhteys saatujen analyysitulosten laatuun ja toistettavuuteen. (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2012; Mikes 2005; Hallanvuo 2010.) Kun laboratoriossa otetaan käyttöön uusi menetelmä tai laite, on tärkeää varmistaa sen sopivuus käyttötarkoitukseensa (Hallanvuo 2010; Mikes 2005). Sopivuus voidaan varmistaa validoinnin avulla (Lehtonen 2004, 94). Tämän opinnäytetyön toimeksiantajana toimii Savonia-ammattikorkeakoulu. Sysmex XS-1000i –verenkuvaa-analysaattorin sopivuus käyttötarkoitukseensa todetaan tässä opinnäytetyössä suoritettavan validoinnin avulla. Kun oppilaitoksen uuden Sysmex XS-1000i –verenkuvaa-analysaattorin tulostasoa on todettu luotettavaksi validoinnin avulla, se on sopiva opetustarkoitukseen.

Tämä opinnäytetyö käsittelee Sysmex XS-1000i –verenkuvaa-analysaattorin validointia. Tavoitteena on selvittää ja saada tietoa siitä, soveltuuko Sysmex XS1000i –

verenkuvaa-analysaattori käyttötarkoitukseensa. Tarkoitus on validoida analysaattori ja verrata tuloksia vertailulaboratoriona toimivan Itä-Suomen laboratoriokeskus liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB:n) kliinisen hematologian laboratorion analyysitulosten kanssa. Laitevalmistaja on jo validoinut tässä opinnäytetyössä käytetyn analyysimenetelmän, mutta tavoitteena on varmistaa sen toimivuus myös kliinisen opetuksen mittauksissa. Tutkimuksen keskeisiä käsitteitä ovat validointi, validointiparametrit sekä verenkuvaa.

2 VERENKUVA JA SEN ANALYSOINTI

2.1 Verenkuva

Verenkuvan numeerinen analysointi on käytetyimpiä terveydenhuollon laboratoriotutkimuksia nopeutensa, edullisuutensa sekä runsaan informaationsa ansiosta. Tutkimuksella saadaan luotettavaa tietoa nopeasti potilaan yleisilasta. Perusverenkuva on perustutkimus, jota käytetään mm. anemioiden, polysytemioiden, veritautien, hemostaasin häiriöiden ja nestetasapainon tutkimisessa. (Matinlauri & Vilpo 2010, 249-252; ISLAB-ohjekirja). Perusverenkuva tarkoittaa veren punasolujen, valkosolujen ja verihiutaleiden laskemista sekä veren hemoglobiinipitoisuuden, punasolujen tilavuusosuuden (hematokriitti) ja punasoluindeksien (keskitilavuus, hemoglobiinin keskimassa ja punasolujen hemoglobiinin keskimassakonsentraatio) määrittämistä. Punasoluista mitatut parametrit antavat perustavanlaatuista tietoa arvioitaessa punasolujen häiriöitä, kuten anemioita. Näistä parametreista johdetut laskennalliset arvot (punasoluindeksit) ovat myös tärkeitä punasolujen kliinisessä arvioinnissa. Perusverenkuvaan voidaan liittää myös valkosolujen erittelylaskenta sekä retikulosyyttien laskenta. (Koski, Pelliniemi & Savolainen 2010, 86; Turgeon 1993, 80.)

Koska laitteet laskevat useita tuhansia soluja jokaisesta näytteestä, on koneellisen erittelylaskennan tuloksissa pienempi variaatio kuin mikroskooppisessa laskennassa ja tulokset ilmoitetaan absoluuttisina määrinä (Mahlamäki 2003, 268-274). Valkosolujen määrän ohella on kiinnitettävä huomiota niiden jakaumaan ja kypsyysasteeseen, Kun näissä esiintyy huomattavaa poikkeavuutta, on syytä tarkastaa veren sivelyvalmiste. Keskimäärin 10–15 % täydellisen verenkuvan näytteistä vaatii käsin suoritettavan erittelylaskennan. (Mahlamäki 2005, 43; Vilpo 2010, 40.)

Täydelliseen verenkuvaan (B-TVK) kuuluu valkosolujen erittelylaskenta, jossa valkosolut luokitellaan koon ja muiden ominaisuuksiensa perusteella neutrofiileihin, lymfosyytteihin, monosyytteihin, eosinofiileihin ja basofiileihin ilmoittaen myös absoluuttiset määrät ja suhteelliset osuudet. Tutkimusta käytetään infektiotautien ja allergioiden diagnostiikkaan sekä hematologisten maligniteettien diagnostiikkaan ja hoidon seurantaan. (Sinisalo & Koski 2010, 2857-2859; ISLAB-ohjekirja.)

Verenkuvan suureiden arvoihin vaikuttavat ikä ja sukupuoli, joten viitearvot (ks. Taulukko 1 ja Taulukko 2) ilmoitetaan näiden suhteen vakioituina. Näytteenottoon liittyvät ja sitä edeltävät tapahtumat, kuten vuorokaudenaika, fyysinen ja psyykinen stressi, ravinto, tupakointi ja lääkkeet, voivat muuttaa tuloksia. Nämä on näytettä otettaessa vakioitava (aamupaastonäyte istuen 15 minuutin levon jälkeen, kevyellä staasilla), jotta tuloksia voidaan verrata viitearvoihin. (Mahlamäki 2003, 268-274.)

Taulukko 1. Viitearvot täydellisen veren kuvan parametreille (ISLAB-ohjekirja).

Ikä	fB-Leuk	B-Eryt	B-Hb	B-Hkr	E-MCV	E-MCH	E-MCHC	B-Trom
0-1pv	9.5-34.0	4.0-6.6	145-225	0.45-0.67	95 - 121	31 - 37	290-370	150-360
2-7pv	5.0-21.0	3.9-6.3	135-215	0.42-0.66	88 - 126	28 - 40	280-380	150-360
8-14pv	5.0-20.0	3.6-6.2	125-205	0.39-0.63	86 - 124	28 - 40	280-380	150-360
15-29pv	5.0-19.5	3.0-5.4	100-180	0.31-0.55	85 - 123	28 - 40	290-370	150-360
1-2kk	6.0-17.5	2.7-4.9	90-130	0.28-0.42	77 - 115	26 - 34	290-370	150-360
3-5kk	6.0-17.5	3.1-4.5	95-135	0.29-0.41	74 - 108	25 - 35	300-360	150-360
6kk-1v	6.0-17.5	3.7-5.3	105-135	0.33-0.39	70 - 86	23 - 31	300-360	150-360
2-5v	5.0-15.5	3.9-5.3	115-135	0.34-0.40	75 - 87	24 - 30	315-360	150-360
6-11v	4.5-13.5	4.0-5.2	115-155	0.35-0.45	77 - 95	25 - 33	315-360	150-360
12-15v tytöt	4.5-13.0	4.1-5.1	125-160	0.36-0.46	78 - 102	25 - 35	315-360	150-360
12-15v pojat	4.5-13.0	4.5-5.3	130-160	0.37-0.49	78 - 98	25 - 35	315-360	150-360
Naiset	3.4 - 8.2	3.9 - 5.2	117 - 155	0.35 - 0.46	82 - 98	27 - 33	315-360	150-360
Miehet	3.40 - 8.2	4.25 - 5.7	134 - 167	0.39 - 0.50	82 - 98	27 - 33	315-360	150-360
	x10E9/l	x10E12/l	g/l	osuus	fl	pg	g/l	10xE9/l

Verenkuva- ja solumorfologiset tutkimukset tehdään yleensä EDTA-putkeen otetusta laskimoverestä. EDTA-antikoagulantti estää veren hyytymisen putkessa. Koska ve-

risolut ovat herkkiä ja biokemiallisesti aktiivisia mekanismeja, vaikuttavat niiden säilyvyyteen monet seikat: käytettävä antikoagulantti, antikoagulantin konsentraatio näytteessä sekä sekoitustapa. EDTA-antikoagulantti-pitoisuus vaikuttaa solujen säilymiseen, joten näyteputken oikeaan täyttymiseen (+/- 20 %) tulee kiinnittää huomiota, sillä putken selkeä yli- tai alitäyttö vaikuttaa näytteen säilyvyyteen EDTA:n konsentraatiovirheen vuoksi. Liian suuri EDTA-pitoisuus voi aiheuttaa punasolujen kutistumista ja trombosyyttien turpoamista ja pilkkoutumista. Näyte on tärkeää sekoittaa hyvin heti näytteenoton jälkeen, mutta liian voimakas sekoittaminen rikkoo soluja ja aiheuttaa täten määritystä haittaavaa hemolyyysiä. Liian vähäinen sekoittaminen voi puolestaan aiheuttaa hyytymien muodostumista putkeen, mikä voi aiheuttaa virheellisiä analyysituloksia tai tukkia analysaattorin näyteneulan. Näyte säilyy huoneenlämpötilassa 12 tuntia ja jääkaappilämpötilassa (2–8 °C) seuraavaan päivään. Antikoagulanttien suolat aiheuttavat aina solujen osmoottista kutistumista. Säilytysajan pidentyessä solut turpoavat. Koska soluissa alkaa tapahtua morfologisia muutoksia pian näytteenoton jälkeen, on veren sivelyvalmiste solujen mikroskooppista arviointia varten tehtävä kolmen tunnin kuluessa näytteenotosta. (Mahlamäki 2003, 268-274; Siloaho 2000, 188; Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 41; ISLAB-ohjekirja.)

Kapillaarinäytettä eli ihopistosnäytettä voidaan myös käyttää, kun haluttu tutkimus on mahdollista tehdä pienestä verimäärästä (Savolainen 2007, 85). Ihopistosnäyte otetaan yleensä vauvoilta kantapäästä ja aikuisilta sormenpäästä. Myös esimerkiksi korvanlehteä tai varvasta voidaan käyttää näytteenottokehtana. Ihopistosnäytteestä analysoitu valkosolujen laskentatulosta voi olla jopa 15–20 % laskimoverinäytteen tulosta korkeampi, sillä ihopistosnäyte on sekoitus valtimo- ja laskimoverta sekä kudoksetä. Myöskin hemoglobiinipitoisuus, hematokriitti ja punasolujen määrä ovat kapillaarinäytteestä analysoituina hieman korkeampia kuin laskimonäytteen. Verihiutaleiden määrä on vastaavasti kapillaarinäytteessä hieman matalampi. (Savolainen 2007, 85; Mullins 2002, 26.)

Täydellisen verenkuvan (B-TVK) osatutkimukset ovat fB-Leuk (kokoveren leukosyytit), B-Eryt (Erytrosyytit), B-Hb (Hemoglobiini), B-HKR (Hematokriitti), E-MCV (Erytrosyyttien keskilavuus), E-MCH (Erytrosyyttien keskimassa), E-MCHC (Keskimassa konsentraatio), B-Trom (Trombosyyttilaskenta), B-Neut (Neutrofiililaskenta), B-Ly (Lymfosyyttilaskenta), B-Baso (Basofiililaskenta), B-Monos (Monosyyttilaskenta), B-Eos (Eosinofiililaskenta), sekä mikroskooppisen 100 solun erittelylaskennan (B-Diffi, L-) neutrofiileistä, lymfosyyteistä, basofiileistä, monosyyteistä sekä eosinofiileistä. B-Diffi tehdään, mikäli analysaattori antaa viitearvoista poikkeavia tuloksia. (ISLAB-

ohjekirja.) Näiden lisäksi analysoidaan solujen koon vaihtelua kuvaavat arvot RDW ja PDW (punasolujen ja trombosyyttien kokojakaumaindeksit) sekä kokojakaamaa kuvaava histogrammi. (Mahlamäki 2003, 268-274.)

Yli 90 % verisoluista on punasoluja eli erytrosyyttejä. Niiden määrä ilmoitetaan yleensä litraa kohti, ja normaaliarvo on n. $5 \times 10^{12}/l$. Naisilla punasolujen määrä tilavuusyksikköä kohti on keskimäärin pienempi kuin miehillä. Punasolujen päätehtävä on kuljettaa keuhkoista happea kudoksille ja hiilidioksidia kudoksista keuhkoihin. Runsas fyysinen aktiviteetti ja kuivuminen vähentävät plasmatilavuutta ja suurentavat B-Eryt-parametriä. Sama vaikutus on liiallisella diureettien käytöllä. Myös solujen vuorokausivaihtelu tunnetaan. Solulaskentaongelmia voi aiheutua kylmäagglutiineista, näytteen lipeemisyydestä ja suuresta leukosyyttimäärästä tai IgM-paraproteiinista. (Bjälle, Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 1998, 270-276; Hoffbrand, Pettit & Moss 2001, 14; Mahlamäki 2003, 268-274; Matinlauri & Vilpo 2010, 249-252.)

Veren hemoglobiini on hapen- ja hiilidioksidinkuljetuksesta vastaava proteiini, joka sijaitsee punasolujen sisällä. Punasolujen valkuaisaineista noin 95 % ja painosta noin 34 % on hemoglobiinia. Hemoglobiinimolekyylillä sekä sitoo että luovuttaa happea, ja se vastaa veren hapenkuljetuksesta. Veren hemoglobiinipitoisuudessa on suuria yksilöllisiä eroja, mutta keskimäärin hemoglobiinia on noin 150 grammaa litrassa. Miesten arvot ovat keskimäärin korkeampia kuin naisten. Tämä johtuu pääasiassa siitä, että mieshormoni, testosteroni, lisää punasolutuotantoa. Veren pienentynyt hemoglobiinipitoisuus merkitsee anemiasa, suurentunut arvo polysytemiasa. (Bjälle ym. 1998, 270-276; Matinlauri & Vilpo 2010, 249-252.)

Punasolujen tilavuusosuudella eli hematokriitillä (B-HKR) tarkoitetaan sentrifugoidun veren punasolupatsaan osuutta koko veripatsaasta. Käytännössä nykyaikaiset verenkuva-analysaattorit määrittävät hematokriittiarvon laskennallisesti punasolujen määrän ja keskitilavuuden avulla ($E-MCV \times B-Eryt$). Hematokriitti on edullinen ja pätevä tapa arvioida veren hapenkuljetuskapasiteettia ja nestetasapainoa. Hematokriitti arvo kulkee yleensä käsi kädessä veren hemoglobiinipitoisuuden kanssa. (Matinlauri & Vilpo 2010, 249-252; Mahlamäki 2003, 268-274.)

Punasoluindekseillä tarkoitetaan punasolujen keskitilavuutta ($E-MCV$), hemoglobiinin keskimassaa ($E-MCH$) sekä hemoglobiinin keskimassakonsentraatiota ($E-MCHC$). Näiden parametrien avulla saadaan tarkempaa tietoa anemioiden laadusta ja syystä. $E-MCH$ ja $E-MCHC$ ovat laskennallisia suureita, jotka saadaan perusparametrien B-

Hb, B-Eryt ja E-MCV avulla: $E-MCH = B-Hb / B-Eryt$ ja $E-MCHC = B-Hb / B-HKR$. Todellista suurempia E-MCV arvoja on todettu hyvin korkeiden veren glukoosi- ja natriumpitoisuuksien yhteydessä. Tämä laboratoriovirhe johtuu solujen turpoamisesta analysaattorin laimennusliuoksen vuoksi. Myös punasolujen voimakas agglutinoituminen voi joskus johtaa virheellisen suureen E-MCV arvoon. (Matinlauri & Vilpo 2010, 249-252.) On myös huomioitava, että huonelämpötilassa E-MCV arvo nousee n. 5 % vuorokaudessa (Yhtyneet Medix laboratoriot 2012).

Aikuisen ihmisen veressä on valkosoluja $7-10 \times 10^9/l$. Toisin kuin punasolujen määrä, valkosolujen määrä ja valkosolutyyppien prosentuaalinen jakautuminen vaihtelee huomattavasti yksilöiden välillä. Veren valkosolupitoisuuden mittaaminen (B-Leuk) suoritetaan nykyään yleisimmiten virtausperiaatteella toimivalla analysaattorilla, jolla mitataan myös muita verenkuvan parametreja. Veren valkosolut luokitellaan neutrofiileihin, basofiileihin, eosinofiileihin, monosyytteihin sekä lymfosyytteihin (Taulukko 2). Neutrofiilien, basofiilien ja eosinofiilien pääasiallinen tehtävä on tuhota bakteereja, kun taas monosyyttien fagosytoiva toiminta ei ole niin erikoistunutta. Lymfosyytit valikoivat tarkemmin mikrobit, joita vastaan ne taistelevat tehokkaammin muun muassa vasta-aineita muodostamalla. (Leclair 2002, 137; Bjälle ym.1998, 270-276).

Taulukko 2. Viitearvot 5-osaiselle konediffille absoluuttisina arvoina ($\times 10^9/l$) (ISLAB-ohjekirja).

Ikä/Solut	B-Neut	B-Ly	B-Mono	B-Eos	B-Baso
0-6 pv	1.5- 21	2.0-17	0.5-2.0	0.2-0.8	<0.1
1-4vko	1.0-9.5	2.0-17	0.4-1.8	0.2-0.6	<0.1
1kk-1v	1.0-8.5	4.0-13.5	0.3-0.9	0.2-0.5	<0.1
2-4v	1.5-8.5	1.5-9.5	0.3-0.9	0.2-0.5	<0.1
5-10v	1.5-8.0	1.5-7.0	0.2-0.7	0.1-0.4	<0.1
11-15v	1.5-7.5	1.2-5.2	0.2-0.7	0.1-0.4	<0.1
aikuiset	1.5-7.5	1.0-4.5	0.2-0.8	0.1-0.4	<0.1

Neutrofiilit ovat noin $13 \mu m$ kokoisia, sauva- tai liuskatumaisia myeloisen solulinjan soluja. Niiden tärkein tehtävä on mikrobien tuhoaminen. Neutrofiileilla on merkittävä rooli elimistön puolustusjärjestelmässä, sillä ne fagosytoivat ja pilkkovat mikro-organismeja. Toisaalta neutrofiilien epänormaali aktivoituminen voi vahingoittaa elimistön omaa tervettä kudosta. Terveen elimistön neutrofiilien tuotanto ja tuhoutumi-

nen ovat tasapainossa, jolloin neutrofiilien määrä veressä pysyy tällöin vakiona. Elimistön infektio aktivoi neutrofiilien tuotantoa ja vapautumista. Syvä neutropenia, eli neutrofiilien vakava puute ja harvinaiset neutrofiilien funktiöhäiriöt johtavat varsinkin bakteeri- ja sieni-infektioihin. Neutrofiliaa, eli neutrofiilien määrän runsautta, esiintyy useimmiten stressin, takykardian, kuumeen, rasittavan liikunnan tai lääkkeiden, kuten kortisonin vaikutuksen vuoksi. (Skubitz 1999, 313; Vilpo 2010, 22; Leclair 2002, 380.)

Eosinofiilien tuma on neutrofiilejä vähemmän liuskoittunut, ja liuskat ovat suurempia. Eosinofiilit ovat myös neutrofiilejä suurempia kooltaan ja ne värjäytyvät kellertävän punaisiksi Wrightin värjäyksessä. Ne ovat halkaisijaltaan 12-14 µm. Myös eosinofiilit ovat fagosytoivia soluja. Niillä on keskeinen osuus parasiittien torjunnassa ja allergisten reaktioiden säätelyssä. Eosinofiliaa tavataan useimmiten erilaisten allergisten reaktioiden yhteydessä, lääkkeiden käytön yhteydessä, monissa ihosairauksissa ja maligniteeteissa. (Skubitz 1999, 314; Vilpo 2010, 22; Leclair 2002, 380.)

Basofiilien tuma on suuri, karkeagranulainen ja se värjäytyy värjättäessä violetinmustaksi. Myös basofiilit kykenevät fagosytoosiin ja toimivat allergisten reaktioiden välittäjinä, mutta niiden merkitys ihmisen puolustusjärjestelmässä on vielä epäselvä. Basofiliaa tavataan kilpirauhasen vajaatoiminnan, haavaisten suolistotulehdusten sekä munuaisten vajaatoiminnan ja hyvänlaatuisten kasvainten yhteydessä. (Skubitz 1999, 314; Vilpo 2010, 22; Leclair 2002, 380.)

Monosyytit ovat elimistön tärkein fagosytoiva solu. Ne ovat kooltaan 12-18 µl. Monosyytit siirtyvät verestä kudoksiin sattumanvaraisesti tai kemotaktisen ärsytyksen vuoksi, missä ne erikoistuvat makrofageiksi. Monosytoosia tavataan lisääntyneen solutuhon yhteydessä, esimerkiksi tulehdustilojen paranemisvaiheissa. (Vilpo 2010, 23; Siitonen & Koistinen 2007, 27; Leclair 2002, 380).

Lymfosyytit ovat pieniä tai keskisuuria (6-14µm) mononukleaarisia soluja, joilla on pyöreä tai ovaalin muotoinen tuma. Tuman kromatiini on paakkuista ja tumaa ympäröivä sytoplasma sinistä. Sytoplasma on usein granulaton. (Siitonen 2012, 4.) Lymfosyytti on immunologinen solu, joka avustaa fagosytoivia soluja elimistön puolustusreaktioissa. Lymfosyytit aktivoivat myös elimistön spesifisen immuunipuolustuksen. Lymfosyytit jaetaan B- ja T-lymfosyytteihin. (Siitonen ym. 2007, 29.)

Myös verihiutaleita eli trombosyyttejä (B-Trom) voidaan määrittää verenkuvanalysaattoreilla. Trombosyyteillä on tärkeä tehtävä veren hyytymisissä, sillä ne va-

pauttavat hyytymistekijöitä aktivoivia aineita. Trombosyyttien puute tai vakava toiminnan häiriö johtaa vuototaipumukseen. Trombosyyteistä voidaan analysaattorilla saada kokojakauma ja keskitilavuus. Verinäytteen trombosyytit turpoavat kuitenkin nopeasti, joten käytännössä kokojakauma parametria ei voi juuri hyödyntää. Voimakas fyysinen rasitus voi nostaa veren trombosyyttipitoisuutta jopa 30 - 40 %. On myös huomioitava, että vastasyntyneiden arvot ovat hieman aikuisten arvoja pienemmät. On huomattava, että EDTA-antikoagulantti voi saada aikaan trombosyyttien aggregoitumisen ja täten B-Trom arvon voimakkaan pienenemisen. Tällöin kyseessä on laboratorioartefakta, joka voidaan välttää kammiolaskennalla. (Matinlauri & Vilpo 2010, 249-252; Vilpo 2010, 24.)

2.2 Verenkuva-analysaattorit

Automaattiset verenkuva-analysaattorit ovat korvanneet manuaaliset menetelmät laboratorioissa viime vuosikymmenien aikana. Solunlaskenta-automaatit pystyvät tuottamaan yli 20 erilaista punasolua, valkosolua tai trombosyyttejä kuvaavaa suuretta. Samaan aikaan ne identifioivat näytteen, lukevat viivakooditarrasta automaattisesti tehtävän analyysin ja tulostavat tuloksen suoraan potilasta hoitavalle yksikölle atk-järjestelmien välityksellä. Automaattisten verenkuva-analysaattoreiden mittausperiaatteet ja reagenssit vaihtelevat riippuen valmistajasta. Esimerkiksi hemoglobiini mitataan perinteisesti syanmethemoglobiinimenetelmällä, mutta on olemassa analysaattoreita, joissa käytetään syanidittomia reagensseja. (Savolainen 2007, 88.)

Verenkuva-analysaattoreissa solujen laskentaan ja tunnistukseen on olemassa monenlaisia tekniikoita, esimerkiksi sähköisen vastuksen (impedanssi) ja sähkönjohtokyvyn mittaaminen, valonsironta, sytokemia ja fluoresenssi. Joissain analysaattoreissa eri tekniikoita käytetään yhtäaikaaisesti. Verisolujen määrän ja koon analysointiin käytetään yhä sähköistä impedanssia, mutta myös virtausytometria on todettu hyväksi menetelmäksi valkosolujen erittelylaskennassa ja epänormaalien solujen tunnistuksessa. (Savolainen 2007, 89-90; Sullivan 2006, 273-278.)

Automaattiset verenkuva-analysaattorit laskevat näytteestä tuhansia soluja, joten tulosten toistettavuus on huomattavasti parempi kuin manuaalisesti sivelyvalmistetta mikroskopoimalla. Analysaattoreiden eduksi voidaan lukea myös se, että niiden tarvitsema näytemäärä on hyvin pieni. Laboratorioissa, joissa näytemäärät ovat suuria, on käytössä analysaattoreita, joissa on automaattinen näytteenotto. Analysaattori

kykenee ottamaan tarvittavan näytemäärän suljetusta putkesta korkin läpi ja näytteitä voidaan ladata useita kymmeniä peräkkäin analysoitavaksi. Näiden laitteiden kapasiteetti on useita kymmeniä, jopa satoja analyysijä tunnissa. (Savolainen 2007, 89-80.)

Automatisoinnista huolimatta verenkuvanalyysi on altis erilaisille virhelähteille. Osa virhelähteistä on selvästi näytelähtöisiä, esimerkiksi näytteen lipeemisyys ja hemolyttisyys. Jos näyte sisältää epänormaalin kokoisia punasoluja, on partikkelien kokoon perustuva mittaustulos virheellinen. Tumalliset punasolut aiheuttavat usein virheitä valkosolujen laskentaan. Korkea valkosolujen määrä saattaa puolestaan häiritä punasolujen määrän ja tilavuuden sekä hemoglobiinin määrittystä. Kehittyneimmät analysaattorit havaitsevat edellä mainittuja tilanteita ja antavat niistä hälytyksiä sekä merkintöjä paperitulosteeseen. Hälytyksiä tulee myös todellisista löydöksistä, esimerkiksi solujen määräsuhteiden muutoksista, patologisista soluista ja epänormaali morfologiasta. Näissä tapauksissa laborioiden ohjeistuksesta riippuen näyte tarkastetaan usein uudestaan mikroskoopilla. Keskimäärin 10–15 % automaattisesti analysoiduista näytteistä joudutaan suorittamaan erittelylaskenta käsin. Valkosolujen erittelyn automatisointi ei vähennä mikroskooppidiffin arvoa. Laitteet on suunniteltu tekemään valkosolujen erittelylaskentaa normaaleista näytteistä ja hälyttämään patologisista, jotta ne osataan poimia mikroskooppiseen tarkasteluun. Oikean tuloksen saaminen hankalista näytteistä onnistuu joskus vain kokeneelta, laitteen ominaisuuksiin hyvin perehtyneeltä ja hematologiaa sekä potilaan kliinistä tilaa ymmärtävältä laboratoriohoitajalta. Automatisoinnin tuomasta helpotuksesta huolimatta tarvitaan hyvää kommunikointia laboriorion ja hoitavien lääkärin välillä. (Savolainen 2007, 91; Vanharanta 2010, 225-230; Mahlamäki 2005, 43.)

2.3 Sysmex XS-1000i

Sysmex XS-1000i on automaattinen hematologinen analysaattori (kuva 1), joka mittaa verisolujen määrää ja kokoa sekä erottelee veren solut toisistaan. XS-sarjan analysaattorit käyttävät samaa teknologiaa kuin suuremmat Sysmexin X-sarjan verenkuvanalysaattorit. Erona on ainoastaan mittauskanavien vähäisempi määrä. Sysmex XS-1000i:n toimintaperiaatteita ovat puolijohdelaservitaussytometria, hydrodynaaminen fokusointi tasavirtaimpedanssimenetelmällä sekä fotometrinen SLS-hemoglobiinimittausmenetelmä. (Kuusela 2009.)



Kuva 1. Sysmex XS-1000i

SLS-hemoglobiinimittausmenetelmä on ympäristöystävällinen, syanidivapaa natriumpiidioksidisulfaatti –menetelmä. SLS-reagenssi sisältää hydrofiilisen ja hydrofobisen ryhmän. Erytrosyyttien ja trombosyyttien mittaamisen jälkeen RBC/HGB kammiossa olevaan näytteeseen lisätään 0.5 ml reagenssia. Reagenssi hemolysoi eli hajottaa leukosyytit sekä erytrosyytit näytteestä. Tämän jälkeen hemoglobiinimolekyylit muokautuu siten, että hydrofiilinen osa reagenssia hapettaa hemiryhmän sitoutumalla siihen muodostaen SLS-hemoglobiinia. Lopullinen tuote on vakaa ja värjätty yhdistelmä, joka voidaan analysoida fotometrisellä menetelmällä mitaten diluentin ja näytteen välistä absorbanssieroja. (Kuusela 2009; Sysmex guide 2009.)

Sysmex XS-1000i –analysaattorilla voi mitata verestä 24 erilaista osatutkimusta. Tulosteeseen se antaa täydellisestä veren kuvasta sirontagrammin, jossa näkyy eri solupopulaatiot ja histogrammit punasoluista, valkosoluista ja verihiutaleista. Analysaattorilla pystyy analysoimaan 60 näytettä tunnissa. Mittaus voidaan tehdä avoimesta ja suljetusta näyteputkesta. Myös automaattinen näytteensyöttö on mahdollinen OPSU-11 –samplerin avulla. Automaattiseen näytteensyöttöjään mahtuu kaksi telinettä, joihin on mahdollista laittaa yhteensä 20 näytettä. Se sekoittaa näytteet ja lukee mahdolliset viivakoodit. Automaattisen näytteensyöttäjän analysointinopeus on 20 näytettä 23 minuutissa. Sysmex XS-1000i:n etu on pieni 20 mikrolitran näytetilavuus, jonka mahdollistaa uudenlainen hukkanäytteen minimoiva näyteneula. (Kuusela 2009.)

Sysmex XS-1000i:n yksi toimintaperiaate on virtaussytometria. Virtaussytometrian avulla rekisteröidään lasersäteestä läpi kulkevien yksittäisten solujen siroamaa ja lähettämää valoa (Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134). Menetelmää hyödyntävällä laitteella

voidaan tunnistaa solupopulaatioita toisistaan koon, rakenteen tai solureseptorien perusteella (Leppiniemi 2006). Virtaussytometriassa hyödynnetään fluoresoivia merkkiaineita, jotka on liitetty solujen rakenteita tunnistaviin monoklonaalisiin vasta-aineisiin. Fluoresoivalla merkkiaineella merkittyihin soluihin suunnataan lasersäde jonka jälkeen solun lähettämän emission voimakkuus mitataan. Tällöin solut analysoidaan siis sekä fluoresenssin että valosironnan avulla. Valonsirontaa mitataan kahdesta eri suunnasta, pienen kulman valonsironta on verrannollinen solujen kokoon ja sivusironta on suhteessa solujen granulaarisuuteen sekä tuman ja sytoplasman suhteeseen. Näiden sirontaominaisuuksien perusteella näytteen valkosolut erottuvat eri solupopulaatioiksi, eli granulocyteiksi, monocyteiksi ja lymphocyteiksi. Virtaussytometrien toiminta perustuu yksittäisten solujen virtaukseen valonlähteen, eli lasersäteen ohi. Analysoitavat solut muutetaan yksisolususpensioksi ja imetään näyteputkesta kapeaksi virtaukseksi, joka johdetaan edelleen virtauskyvetiin. Kyvetissä nämä solut kohdennetaan hydrodynaamisesti vaipanesteen avulla kulkemaan lasersäteiden ohi yksi kerrallaan. Solun kohdatessa lasersäteen, siihen kiinnittynyt fluoresoiva yhdiste virittyy tietyllä aallonpituudella ja emittoi korkeammalla aallonpituusvälillä. Tällöin soluista voidaan mitata fluoresensseja, joista käytetään yleisesti nimitystä fluoresenssikanava. (Leppiniemi 2006; Pelliniemi ym. 2007, 134-135.)

Rutiinityöskentelyssä tutkittavasta näytteestä analysoidaan 10 000–50 000 solua, mikä tekee menetelmästä kvantitatiivisen ja tuloksiltaan toistettavan ja parantaa täten tutkimustulosten luotettavuutta. Virtaussytometrin analysoimat tulokset tulostuvat usein havainnollisiksi histogrammeiksi ja sirontakuvioiksi. (Siitonen & Pelliniemi 2005, 205.)

Hydrodynaaminen fokusointimenetelmä lisää verensolujen mittaustarkkuutta ja toistettavuutta. Menetelmää käytettäessä epänormaaleja signaaleja ei tule, koska solut kulkevat mitta-aukosta jonossa. Näytesuutin asetetaan mittausaukon eteen ja laimennettu näyte kulkee tällöin etureagenssivaipan ympäröimän kartiomaisen mittausaukon läpi. Sen jälkeen näyte kulkee edelleen keräysputkeen, joka estää solujen takaisinvirtauksen. (Kuusela 2009; Sysmex guide 2009.)

3 VALIDOINTI OSANA LABORATORIOTYÖN LAATUA

3.1 Laatu laboratoriotyössä

Laboratoriolaatuun liittyviä keskeisiä käsitteitä ovat laadunvarmistus ja laadunvalvonta. Termeillä pyritään viittaamaan niihin valvonnallisiin toimiin, joiden päämääränä on varmistaa koko laboratorioprosessille asetettujen laatuvaatimusten toteutuminen. Laadunvarmistuksella tarkoitetaan kaikkia niitä toimenpiteitä, joiden avulla pyritään takamaan potilaille ja heidän lääkäreilleen mahdollisimman hyvä ja luotettava palvelu. Tällaisia toimenpiteitä ovat kaikki laboratorioprosessiin liittyvät valvonnat ja seurannat, henkilökunnan kouluttaminen, materiaalin laadusta huolehtiminen sekä esimerkiksi asiakastyytyväisyys. Laadunvalvonnalla tarkoitetaan puolestaan prosessin valvomiseksi kehitettyä, sille ominaista testausjärjestelmää. Järjestelmällä tarkoitetaan esimerkiksi kontrollinäytteiden analysointia ja tulostason seurantaa. (Krause 2002, 42.)

Laboratorioprosessi käsittää preanalyttisen vaiheen, analyttisen vaiheen sekä post-analyttisen vaiheen. Preanalytiikka voidaan edelleen jakaa tutkimuksen valintaan ja suunnitteluun, pyyntövaiheeseen, näytteenottoon sekä näytteen kuljettamiseen. Laboratoriohenkilökunnan ja analyysin suorittamisen kannalta olennaisen kriittinen vaihe laadullisesti on näytteenotto, sillä siinä virheiden riski on erityisen suuri. Laboratoriotoinnin keskittämisen myötä myös näytteiden kuljettamiseen liittyvät riskit ovat lisääntyneet. Yleisimpiä pre-analyttisiä virheitä ovat näytteen hemolysoituminen ja väärä näytemäärä (vajaa putki). Muita pre-analyttisiä virhemahdollisuuksia ovat esimerkiksi väärän näytteenottoputken käyttäminen, potilaan tunnistaminen väärin tai väärän tutkimuksen tilaaminen. Analyttinen vaihe alkaa, kun näyte on valmis analysoitavaksi ja loppuu tuloksen tulkintaan ja vahvistamiseen. Analyttisen vaiheen suurimmat virhemahdollisuudet liittyvät näytteen vääryyden käsittelyyn ja analyysiä häiritseviin yhdisteisiin. Laboratorioprosessin analyttisen vaiheen virhelähteet liittyvät usein menetelmän tarkkuuteen, herkkyyteen, spesifisyyteen tai lineaarisuuteen. Menetelmän pystyttämisen ja verifioimisen avulla näitä virhelähteitä pyritään minimoimaan. Verifioimisella tarkoitetaan menetelmän tulostason oikeellisuuden tarkastamista ja todentamista validointia suppeammassa mittakaavassa. Analyttisen vaiheen virheet voidaan jakaa satunnaisiin virheisiin ja systemaattisiin virheisiin. Satunnaiset virheet liittyvät yleensä ajoitukseen, lämpötilaan tai pipetointiin. Systemaattisella virheellä tarkoitetaan yleensä kalibraatiossa tapahtuvia virheitä, jotka vaikuttavat analyysoijan tulostason. Post-analyttisessä vaiheessa laboratoriotulokset luovute-

taan klinikoille ja niiden perusteella tehdään hoitopäätöksiä. Kriittisten tulosten raportointi hoitohenkilökunnalle sekä tulosten siirtyminen analysaattorilta yleiseen tietokantaan ovat potentiaalisia laatuvirheelle altistuvia kohtia laboratorioprosessin post-analyttisessä vaiheessa. (Laitinen 2003, 32; Hammerling 2011, 41-43; Wians 2009, 105-113.)

Laboratoriolla on vastuu analyysityönsä laadusta ja toimintojensa kehittämisestä kaikessa palvelutoiminnassaan. Analyysitekniikoiden kehittyminen, automaation lisääntyminen ja näytteiden lukumäärän kasvu ovat puolestaan aiheuttaneet sen, että yksittäisten mittaustulosten oikeellisuutta ei voida varmistaa näytekohtaisesti. Tulosten oikeellisuus todennetaan siten, että osoitetaan koko mittausjärjestelmän kyky tuottaa oikeita tuloksia kyseiselle näytetyypille ja pitoisuudelle. Mittausjärjestelmään kuuluu näyte, analyysimenetelmä, mittalaite, mittaja sekä mittausympäristö. (Jaarinen & Niiranen 2005, 8.)

Laboratoriotuloksen luotettavuuteen vaikuttavat mm. henkilökunnan ammattitaito, menetelmien ja reagenssien asianmukaisuus sekä laitteiden tasokkuus. Myös näytteenotto, näytteen valmistelu, näytteen osan valinta, kalibraattorit, vertailumateriaalit, käytetyt laitteet, ympäristötekijät, näytteen kunto sekä tutkimuksen suorittajan vaihtuminen voivat olla mahdollisia epävarmuutta aiheuttavia tekijöitä. Analyttisen laadunvarmistuksen tärkeimmät osa-alueet ovat sisäinen laadunohjaus sekä ulkoinen laadunarviointi. Tuloksen varmentamiseen käytetään erilaisia kontrollikeinoja, joilla vähennetään virhetulosten vaaraa ja ylläpidetään tulosten toistuvuutta. Tätä toimintaa kutsutaan sisäiseksi laadunohjaukseksi. Sisäinen laadunohjaus kuuluu osaksi jokaisen laboratoriomenetelmän suorittamista. Laboratorion tulee jatkuvasti tutkia omilla näytteillään tai kaupallisten tuotteiden avulla omien menetelmiensä tasoa. Laboratorion tulee myös suunnitella sisäinen laadunohjausjärjestelmä, joka varmistaa tuloksille määritellyn laadutason saavuttamisen. (Suomen Standardoimisliitto 2007, 50; Rajamäki 2007, 145; Linko 2004, 60; Penttilä 2003, 36.)

Kontrollimateriaaliksi sopivat joko tuore potilasnäyte tai kaupalliset valmiit kontrollit. Jokaisen laboratorion tulisi määrittää itse kontrollin eri parametrien tavoiterajat ja sopia käytettävistä laaduntarkkailusäännöistä. Tuoreen verinäytteen lyhyen säilymisajan (1-2 vrk) vuoksi kannattaa lisänä käyttää paremmin säilyvää kaupallista valmistetta, jonka avulla saadaan kuva määrityksen pidemmän aikavälin toistettavuudesta. Kontrollinäyte määritetään jokaisen sarjan alussa ja lopussa. Jos mittaussarjat ovat pitkät, tulisi joka 20.-30. näytteen olla kontrollinäyte. Kontrollinäytteiden tulokset kerä-

tään laadunvarmistustiedostoon, jonka pohjalta voidaan tehdä johtopäätöksiä laitteen toiminnan tasosta ja löytää mahdolliset ongelmatilanteet. Laitteen toimivuuden seurannan lisäksi laitteen käyttäjä joutuu arvioimaan yksittäisten tulosten oikeellisuutta eli sitä, ovatko tulokset luotettavia ja järkeviä. (Mahlamäki 2003.)

Laboratoriot vertaavat omia tuloksia myös muiden laboratorioiden saamiin tuloksiin. Tämänlaista menettelyä kutsutaan ulkoiseksi laadunvalvonnaksi. Tavallisesti ulkopuolinen laadunarviointipalveluja järjestävä taho toimittaa laboratoriolle näytteitä tutkittavaksi, kerää tulokset ja laatii palautteen. Palautteen avulla laboratoriot voivat arvioida tulostasoaan ja tulostensa oikeellisuutta. Suomessa Labquality Oy järjestää laitteiden toimivuutta ja lämpötilan tarkkailua valvovia laadunvarmistuskierroksia, joihin laboratorion tulee SFS –standardien mukaan osallistua. (Rajamäki 2007, 146; Laitinen 2003, 34; Suomen Standardoimisliitto 2007, 50.)

Tulosten pätevyyttä voi osoittaa myös kansainvälisiin standardeihin perustuvan laatu-järjestelmän avulla. Laatujärjestelmällä tarkoitetaan toimintatapaa, jossa kaikki työvaiheet tehdään systematisoidusti ja yhdenmukaisesti sovittujen ohjeiden mukaisesti, jotka kattaa toiminnot näytteenotosta vastausten saamiseen saakka. Kaikista tulosten laatuun vaikuttavista tekijöistä pidetään jäljitettävää kirjanpitoa. Laatujärjestelmän ulkoisen arvioinnin suorittaa säännöllisin väliajoin ulkopuolinen toimivaltainen elin. Laatujärjestelmän tulee täyttää standardin vaatimukset ja laboratorion mittaustulokset tulee olla vertailukelpoisia suhteessa kansainväliseen tulostasoon, jotta laboratorio saa asianmukaisen laatuvarmuuden. (Rajamäki 2007, 146.) Suomessa standardeja myöntää Suomen Standardoimisliitto SFS.

3.2 Laatu hematologisissa laboratoriotutkimuksissa

Myös hematologisissa tutkimuksissa laaduntarkkailun keskeisiä suureita ovat tuloksen tarkkuus ja toistettavuus. Valtaosa hematologisista laboratoriotutkimuksista selvittää elimistön hematologista tilaa. Tutkimusten kirjo on hyvin laaja tavanomaisista verenkuvatutkimuksista vaativiin erikoistutkimuksiin. Viime vuosikymmeninä perusveren kuvan tutkimusten laatu on huomattavasti parantunut, johon on vaikuttanut eniten automaation kehittyminen, jota hyödynnetään nykyisin myös pienemmissä laboratorioissa. Perusveren kuvan arvojen vertailtavuus on niin hyvä, että Suomessa on voitu ottaa käyttöön yhtenäiset viitearvot (ks. Taulukko 1 ja Taulukko 2). (Rajamäki 2007, 146.)

Laaduntarkkailua toteutetaan kalibroimalla analysaattori ja menetelmä vertailunäytettä käyttäen, päivittäisillä kontrollinäytteillä ja potilasnäytteiden pitkäaikaisia keskiarvoja seuraamalla. Keskiarvojen seuranta varten analysaattoreissa on usein sisäänrakennettuja ohjelmistoja. Myös osallistuminen ulkoiseen laaduntarkkailuun on olennainen osa hematologista laaduntarkkailua. (Savolainen 2007, 92-93.)

Hematologisten laboratoriotutkimusten perusvalikoimaan kuuluu myös valkosolujen erittelylaskenta. Sen merkitys on suuri tulehdustautien ja pahanlaatuisten veritautien diagnostiikassa. Erittelylaskennan luotettavuuteen vaikuttaa hyvin paljon laboratoriohoitajien ammattitaito ja sen ylläpito. Ulkoisen laadunvalvonnan mukaan tulehdustautien diagnostiikkaan liittyvä erittelylaskenta on luotettavaa ja yhdenmukaista riippumatta laboratorion koosta. Pahanlaatuisten verisolujen tunnistamisessa sitä vastoin on puutteita näiden tilojen harvinaisuuden vuoksi. Verisoluanalysointit sisältävät valkosolujen erittelylaskennan usein kolmiosisaisena tai viisiosisaisena. Kolmiosisaiseen valkosolujen erittelylaskentaan sisältyy lymfosyyttien, granulosityttien ja ns. välipopulaation, johon kuuluu esimerkiksi monosyytit, laskenta. Kolmiosisaista erittelyä käytetään luotettavana välikontrolliarvona, kun seurataan syöpäpotilaan solunsalpaajahoitoa. Viisiosisaiseen erittelyyn sisältyy valkosolujen jako neutrofiileihin, eosinofiileihin, basofiileihin, lymfosyytteihin ja monosyytteihin. Viisiosisaiseen erittelyyn pystyviä analysointilaitteita pidetään hyvin luotettavina. Niiden analysoimat tulokset ovat suurelta osin korvannut perinteisen manuaalisen valkosoluerittelyn. (Rajamäki 2007, 147.)

Nykyisin ulkoinen laadunarviointijärjestelmä kattaa kaikki hematologiset perustutkimukset ja huomattavan osan erikoistutkimuksia. Kattavuus paranee jatkuvasti kansallisin toimin ja kansainvälisen yhteistyön avulla. Uusia haasteita hematologisten tutkimusten laaduntarkkailuun tuovat mm. vieritutkimukset. Ne ovat tärkeä laadullinen kehityskohde. Mittausten laadun parantamiseksi vaaditaan vieritestauslaitteiden käyttäjien ja laboratorioiden kiinteämpää yhteistyötä. (Rajamäki 2007, 149-150.)

3.3 Validointi

Validoinnilla tarkoitetaan niitä toimenpiteitä, joilla osoitetaan menetelmän sopivuus käyttötarkoitukseensa. Analyysipalveluita tuottavan laboratorion toiminta perustuu validoitujen analyysimenetelmien käyttöön (Jaarinen ym. 2005, 11). Validoinnissa tarkastetaan vertailumateriaalien avulla menetelmän kyky tuottaa oikeita tuloksia sekä toistomittausten avulla menetelmän toistettavuus. Hyvä laboratoriokäytäntö edel-

lyttää, että määritysmenetelmille asetetaan analyttiset laatutavoitteet, jotta riittävä laatutaso saavutetaan. Validoinnilla on laatutason saavuttamisessa merkittävä rooli. SFS-standardin mukaan laboratorion tulee käyttää vain validoituja menettelyjä varmistaakseen tutkimusmenetelmien sopivuuden käyttötarkoitukseensa. Menetelmän validoinnissa tutkittavia asioita ovat selektiivisyys ja spesifisyys, lineaarisuus, mitta-alue, toteamisraja, määritysraja, poikkeama, saanto, häiriökestävyys, toimintavarmuus, tarkkuus sekä toistettavuus ja mittausepävarmuus. Analyysimenetelmän suorituskypäparametrit selvitetään suunniteltujen mittaussarjojen avulla. Olennaisinta on arvioida menetelmän suorituskypä ja ennen kaikkea soveltuvuutta tiettyyn tarkoitukseen. Validoinnilla on suora yhteys menetelmällä saatavien analyysitulosten laatuun. Validoinnin avulla osoitetaan menetelmän toimivan hyväksyttävästi. Laboratorion itsensä kehittämän menetelmän validointivaatimukset voivat erota yleisesti tunnetuista ja virallisista standardimenetelmistä, joita määrittävät asetetut standardit ja ohjeet. Validointia varten laaditaan validointisuunnitelma, jossa esitetään validoinnin laajuus sekä validointiparametrien tavoitearvot. (Mikes 2005; Linko 2004, 60; Suomen Standardoimisliitto 2007; Jaarinen ym. 2005, 11; Lehtonen & Sihvonen 2004, 94.)

Validointisuunnitelmaa laadittaessa on pohdittava, kuinka laajaa validointia kyseiselle menetelmälle tarvitaan. Draft International standardin (2011) mukaan validoinnin tulee olla niin laaja kuin on tarpeen, jotta saadaan puolueetonta näyttöä menetelmän suorituskypästä ja käyttötarkoitukseen soveltuvuudesta. Laajuuteen vaikuttavat usein asiakkaan erityistarpeet ja vaatimukset sekä näytematriisi. Validointisuunnitelmassa esitetään laajuus ja validoitavien parametrien tavoitearvot. Suunnitelmaan voi liittää myös mm. suhteellisen toistotarkkuuden, määritysrajat ja ympäristöolosuhteet. Tulostason arviointiin käytetään referenssimenetelmää. Se on tarkoin määritelty ja validoitu testausmenettely, mittaus tai analyysi, jota käytetään muiden menetelmien laadullisessa vertailussa. (Lehtonen ym. 2004, 94; Mikes 2008.)

Selektiivisyydellä tarkoitetaan, missä määrin menetelmällä voidaan määrittää tietty analysoitava aine tai aineet monikomponenttisessa seoksessa siten, että muut komponentit eivät häiritse. Selektiivisyys on käsite, joka kuvaa kuinka hyvin analyytit voidaan erottaa näytetaustasta ja kuinka hyvin niiden pitoisuudet voidaan määrittää, kun näytetaustassa esiintyy muita komponentteja. Analyysimenetelmä on täysin selektiivinen, jos sen avulla analyytti pystytään spesifisesti määrittämään muiden yhdisteiden joukosta. Analyysimenetelmä voi olla analyytin suhteen spesifinen eli mittauksessa saatava signaali on peräisin vain tutkittavasta analyytistä. Menetelmä on spesifinen, jos se on täysin selektiivinen analysoitavalle aineelle tai aineryhmälle. Spesifi-

syyden ja selektiivisyyden testaaminen on laite- ja yhdistekohtaista. (Mikes 2005; Jaarinen ym. 2010, 12.)

Lineaarisuudella puolestaan tarkoitetaan analyttisen menetelmän kykyä antaa tietyllä alueella hyväksyttävä lineaarinen korrelaatio tulosten ja näytteiden tutkittavan aineen pitoisuuden välillä. Lineaarisuustutkimusten avulla määritetään samalla myös analyysimenetelmän luotettava mittausalue, jolla hyväksyttävä tarkkuus ja täsmällisyys voidaan saavuttaa. Se on yleensä laajempi kuin lineaarinen alue. Lineaarisella mittausalueella mittalaitteen herkkyyks on vakio eli tulosten ja näytteistä tutkittavien aineiden välillä on lineaarinen korrelaatio. Käytettävällä mittausalueella mittauslaitteen virhe on tunnetuissa, määritellyissä rajoissa. (Mikes 2005; Jaarinen ym. 2005, 13.)

Toteamisraja kertoo sen pitoisuuden tai ainemäärän, joka tuottaa selvästi havaittavan eli taustakohinasta erottuvan signaalin. Toteamis- eli detektorajalla tarkoitetaan siis sitä analyttin pitoisuutta, jonka antama mittalaitteen signaalin taso voidaan todeta luotettavasti (95 %:n todennäköisyydellä) ja joka eroaa nollanäytteen arvosta merkittävästi ollen esimerkiksi kolme kertaa nollanäytteen keskihajonnan suuruinen. Toteamisraja määritetään analysoimalla nollanäytteitä toistuvasti. Suoritettujen rinnakkaismääritysten perusteella lasketaan taustalle keskiarvo ja keskihajonta. Toteamisraja määritetään vertaamalla analyttin vastetta nollanäytteiden keskiarvoon ja hajontaan. Toteamisrajalla mitattu vaste tai määritetty pitoisuus tulee olla niin korkea, että se selkeästi eroaa taustan satunnaisvaihtelusta. (Lehtonen ym. 2004; Jaarinen ym. 2005, 13; Mikes 2005.)

Määrittys- eli kvantitointirajalla tarkoitetaan kvantitatiivisen määrittymisen pitoisuusalarajaa väiaineessa (matriisissa) mitattuna, jolle voidaan esittää epävarmuusarvio. Määrittysrajalla tarkoitetaan siis näytetaustaa vastaan mitatun analyttin pienintä pitoisuustasoa, jolle kvantitatiivisia mittauksia voidaan suorittaa tietyllä luotettavuustasolla. Määrittysraja todetaan sopivaa vertailumateriaalia käyttämällä. Määrittysrajan toteamisessa suositellaan yleisesti 6–10 mittauksen toistamista. Määrittysraja on tavallisesti kalibrointikäyrän alhaisin piste, kun nollanäytettä ei huomioida. Määrittysraja on useimmiten 5, 6 tai 10 kertaa nollanäytteen keskihajonnan suuruinen. Toteamisrajan ja määrittysrajan väliin jää ns. harmaa alue, jolla analytti voidaan kyllä luotettavasti todeta, mutta sen kvantitointi on huomattavan epävarmaa. Tällöin analyttiä voidaan todeta olevan näytteessä, mutta sen pitoisuuden ”olevan alle määrittysrajan”. (Mikes 2005; Jaarinen ym. 2010, 13).

Mittauslaitteen tarkkuus tarkoittaa mittauslaitteen kykyä antaa vasteita, jotka ovat lähellä tosiarvoa. Mittauksen tarkkuudella tarkoitetaan siis mittaustuloksen ja tosiarvon yhteensopivuutta. Yhteensopivuuteen vaikuttavat sekä systemaattinen että satunnaisvirhe. Tarkkuus ilmaistaan udein mittaustulosten keskiarvo \pm pitoisuus, jolla välillä tulokset ovat tietyllä todennäköisyydellä. Menetelmän validoinnissa tulosten tarkkuutta pyritään arvioimaan systemaattisten- ja satunnaisvirheiden kautta. Menetelmän tarkkuutta tarkastellaan siksi sekä mittauksen oikeellisuutta että toistotarkkuutta tutkimalla. (Jaarinen ym. 2005, 12; Mikes 2005.)

Mittauksen oikeellisuudella tarkoitetaan useista mittauksista saatujen tulosten keskiarvon yhtäpitävyyttä mitattavan suureen sovitun tosiarvon kanssa. Oikeellisuudella tarkoitetaan siis mittaustulosten keskiarvon ja todellisen arvon välistä yhtäpitävyyttä (Jaarinen ym. 2010, 12; Mikes 2005.)

Toistotarkkuudella tarkoitetaan toisistaan riippumattomien, tunnetuissa olosuhteissa saatujen mittaustulosten keskinäistä paikkansapitävyyttä. Toistotarkkuus on yleistermi, joka liittyy testien väliseen vaihteluun kun tutkitaan toisistaan riippumattomien, tunnetuissa olosuhteissa saatujen mittaustulosten keskinäistä paikkansapitävyyttä (Jaarinen ym. 2010, 12; Mikes 2005.)

Toistettavuus tarkoittaa täsmällisyyttä, joka saavutetaan kun määritykset tehdään lyhyellä aikavälillä sellaisissa olosuhteissa, joissa tekijät, laitteet, reagenssit ja esimerkiksi lämpötila pysyvät muuttumattomina. Toistettavuus määritetään tekemällä useita rinnakkaismäärityksiä erityyppisistä näytteistä eri pitoisuuksilla. Mittaussarjan sisäinen toistuvuus eli peräkkäisten mittaustulosten keskihajonta on pienin, kun sama, yhtä suuriin osiin jaettu näyte analysoidaan samoissa mittausolosuhteissa, samalla menetelmällä ja laitteella lyhyen ajan sisällä. Mittaussarjojen välinen hajonta on aina hieman suurempi kuin mittaussarjan sisäinen hajonta. **Menetelmän uusittavuus** tarkoittaa sitä täsmällisyyttä, joka saavutetaan, kun mittaukset tehdään samasta näytteestä, samalla menetelmällä eri laboratorioissa eri laitteiden välillä. Uusittavuutta tutkitaankin etenkin tietyn analyysimenetelmän standardisoinnin yhteydessä laboratorioiden välisin vertailukokein. (Jaarinen ym. 2010, 12; Mikes 2005.)

Poikkeamalla, eli systemaattisella virheellä tarkoitetaan mitattavan suureen oletetun mittaustuloksen ja tosiarvon tai sovitun arvon välistä eroa. Mittalaitteen poikkeama ilmoitetaan yleensä prosentteina oikeasta näyttämästä. Systemaattista virhet-

tä aiheuttavat mm. väärät kalibroinnit, mittalaitteen väärin lukeminen, sekä laitteen rajallinen havaitsemistehokkuus. (Mikes 2005.)

Saanto kuvastaa menetelmän tehoa havaita tutkittavan analyytin kokonaismäärä. Saanto määritellään näytteen analyytin määräksi, kun se määritellään esikäsittelyn jälkeen käytettävällä menetelmällä. Saanto ilmoitetaan useimmiten prosenttina tunnetun lisäyksen laskennallisesta arvosta. (Mikes 2005.)

Häiriökestävyys tarkoittaa menetelmän antamien tulosten herkkyyttä pienille muutoksille testausolosuhteissa sekä suorituksen vaiheissa, laboratoriossa tai henkilökunnassa. **Mittausmenetelmän toimintavarmuus** tarkoittaa mittausmenetelmän kykyä tuottaa hyväksyttäviä tuloksia huolimatta poikkeamista mittausmenetelmän yksityiskohdissa. Häiriökestävyyttä ja toimintavarmuutta voidaan testata aiheuttamalla tarkoituksella pieniä, todellisissa tilanteissa esiintyviä muutoksia ja tarkkailla niiden vaikutuksia menetelmään. Esimerkiksi määrittelyn tekeminen eri laitteella tai eri valmistuserän kemikaaleilla (Jaarinen ym. 2010, 12; Mikes 2005).

Mittausepävarmuus on arvio siitä, kuinka suuri mittausvirhe voi olla, koska mittaus-tulos ei ole koskaan täysin oikein, vaan mittaus-tulos on aina arvio mitattavasta arvosta. Analyysiraporteissa ilmoitettava mittausepävarmuus on vaihteluväli, jolle mittaus-tulos sijoittuu tietyllä, yleensä 95 %:n todennäköisyydellä (Jaarinen ym. 2010, 35; TKK 2006.)

4 TUTKIMUKSEN TAVOITE, TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYS

Tämän opinnäytetyön tavoite on selvittää ja saada tietoa, soveltuuko Sysmex XS1000i –verenkuva-analysaattori käyttötarkoitukseensa. Tarkoitus on validoida analysaattori ja verrata tuloksia vertailulaboratoriona toimivan ISLAB:n kliinisen hematologian laboratorion analyysitulosten kanssa.

Tutkimuskysymys on, miten Sysmex XS-1000i –verenkuva-analysaattorin ja vertailulaboratorion tulokset korreloivat keskenään. Tutkimuskysymyksen kautta arvioidaan analysaattorin sopivuutta käyttötarkoitukseensa, eli oppilaitoksessa tapahtuvaan bio-analyttikko-opiskelijoiden kliiniseen opetukseen.

5 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

5.1 Tutkimusmenetelmä

Tutkimuksen tarkoitus ohjaa aina tutkimusmenetelmän valintaa. Tässä opinnäytetyössä tutkimusmenetelmä on kvantitatiivinen eli määrällinen. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tuloksia käsitellään numeerisessa muodossa, ja niiden merkittävyyttä arvioidaan tilastoihin vertaamalla. Kvantitatiiviset tutkimusmenetelmät perustuvat aina mittaamiseen, vaikkakin mittayksikkö voi vaihdella tutkittavan ilmiön luonteen mukaan. Määrälliselle tutkimukselle tyypillistä on, että tutkimuksen eri vaiheet erottuvat toisistaan selkeästi (aineiston kerääminen, aineiston käsittely, aineiston analyysi). Kvantitatiivisessa tutkimuksessa keskeistä on päätelmien teko havaintoaineiston tilastollisen analysoinnin avulla, esimerkiksi tulosten kuvailu prosenttitaulukoiden avulla. Tuloksia ja niiden ominaisuuksia käsitellään numeroiden avulla kuvaillen. (Vilkkä 2007, 14; Jalasoja 2003; Erätuuli ym.1994, 10; Hirsjärvi ym.1997,129.)

Kvantitatiivinen tutkimus voi olla kartoittavaa, kuvailevaa, selittävää, vertailevaa tai ennustavaa. Tiettyyn tutkimukseen voi kuitenkin sisältyä useampia kuin yksi tarkoitus ja tarkoitus voi myös muuttua tutkimuksen edetessä. Vertailevassa tutkimuksessa tarkoituksena on ymmärtää tutkittavaa asiaa paremmin kahden tai useamman tutkimuskohteen avulla sekä tuoda esille asioiden välisiä eroja. Tyypillistä vertailevalle tutkimukselle on hypoteesien asettaminen. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 1997, 129; Vilkkä 2007, 21; Erätuuli, Leino & Yli-luoma 1994, 10.)

Tässä tutkimuksessa verrataan kahden eri analysaattorin tuloksia keskenään, eli suoritamme vertailevaa tutkimusta. Tarkoituksena on varmistaa Sysmex-analysaattorin sopivuus käyttötarkoitukseensa ja todeta sen tulostason luotettavuus, joten tältä osin toteutamme kartoittavaa tutkimusta. Tulokset esitetään numeerisessa muodossa ja niitä analysoidaan tilastollisin menetelmin esimerkiksi korrelaation ja regression avulla.

5.2 Sysmex XS-1000i:n validoinnin toteutus

Tässä työssä arvioimme Sysmex XS1000i –verenkuva-analysaattorin toimintaa verenkuvaparametrien avulla. Vertasimme Sysmexillä analysoimiamme tiettyjä verenkuvan parametreja referenssimenetelmällä saatuihin tuloksiin, ja arvioimme tulosten yhteneväisyyttä. Verenkuvaparametreista käytimme tulosten vertailussa hemoglobiini-

nia hematokriittiä, valkosolujen määrää, punasolujen määrää sekä valkosolujen eritelylaskennan tuloksia. Näiden parametrien arvioitiin yhdessä toimeksiantajan kanssa olevan riittäviä tässä opinnäytetyössä. Laskennallisista punasoluindekseistä jätettiin pois E-MCV, E-MCHC, E-MCH, sillä arvot muodostuvat muista analysoiduista verenkuvaparametreista. Näistä tuloksista laadimme korrelaatiokuvaajia, joiden avulla tulosten yhteneväisyys on helppo havainnoida. Rinnakkaisten analyysituloksien eroavaisuus ei tulisi olla yli 10 % (Sorto, Törmä & Kaihola 1996, 5). Trombosyyttien (B-Trom) analyysitulokset Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n välillä erosivat usean näytteen kohdalla toisistaan yli 10 %, joten trombosyyttien tulokset jätettiin kokonaisuudessaan validoinnin ulkopuolelle.

Tässä tutkimuksessa käytetyt validointiparametrit ovat toistettavuus ja lineaarisuus. Toistettavuutta tutkittiin analysoimalla viittä eri näytettä kutakin viisi kertaa peräkkäin. Lineaarisuutta tutkittiin vertaamalla Sysmex XS-1000i –analyysituloksia ISLAB:n vastaaviin tuloksiin. Näillä parametreilla saatiin tämän opinnäytetyön kannalta riittävä ja tarvittava tieto analysaattorin tulosten laadusta ja siten sen soveltuvuudesta käyttötarkoitukseensa. Myös tutkimuksen suhteellisen pieni otoskoko, käytettävät resurssit ja aikataulu vaikuttivat käytettyjen validointiparametrien valintaan. Toistettavuus ja lineaarisuus on mahdollista määrittää pienellä otoskolla.

Näytemateriaali hankittiin ISLAB:n klinisen hematologian laboratoriosta. Lupa näytteiden käyttöön saatiin ISLAB:lta. Näytteet olivat laboratoriohoitajien aamukierrolla Kuopion yliopistollisen sairaalan eri osastoilta ottamia kokoverinäytteitä. Näytteet analysoitiin sekä vertailulaboratoriossa että validoitavalla Sysmex-analysaattorilla näytteenottopäivänä: analysointi (B-TVK) tapahtui vertailulaboratoriossa aamulla, Sysmexillä samana iltapäivänä. Näytemateriaali oli siis analysointihetkenä kohtalaisen tuoretta, eikä analysointien välillä tullut turhaa viivettä. Pidemmällä säilytysajalla verisoluissa alkaa tapahtua morfologisia muutoksia, kuten turpoamista (Mahlamäki 2003, 268-274). Näytteenoton ja analysoinnin jälkeen näytteitä säilytettiin huoneenlämmössä, koska näytteet säilyvät analysointikelpoisina +20 asteessa 12 tuntia (ISLAB-ohjekirja), eikä tarvetta tämän pidempiaikaiselle säilytykselle ollut. Kuljetimme näytteitä niiden lähettämiseen tarkoitetussa styrox-laatikossa myöskin huoneenlämmössä. Potilastunnisteet poistettiin näyteputkista ja analysointituloksista ennen näytteiden luovutusta tutkimuskäyttöön. Näytteiden identifioimisessa käytettiin juoksevaa numerointia. Näytemateriaalina oli 26 kpl K₂EDTA-antikoagulanttiputkeen otettuja kokoverinäytteitä. Näytteet olivat merkkiviivaan asti täyttyneitä, eivätkä silmämääräisesti havainnoituina olleet hyytyneitä tai hemolysoituneita.

Menetelmän hyväksyttävyyttä määritettäessä tulee aina mahdollisuuksien mukaan hyödyntää ulkoista koestusmateriaalia, esimerkiksi laboratorioden välillä vaihdettavia näytteitä, mikäli järjestelmällistä ulkoista laadunarviointiohjelmää ei ole saatavilla (Suomen Standardoimisliitto 2007, 52).

Validointi aloitettiin laatimalla validointisuunnitelma (Liite1). Analysaattorin käyttöön saatiin koulutusta laitevalmistajalta ennen validoinnin käytännön toteutusta. Laitekoulutus järjestettiin Savonia-ammattikorkeakoulun tiloissa, kun uusi laite oli hankittu. Koulutuksessa opeteltiin laitteen peruskäyttö ja toimintaperiaatteet.

Ennen validoinnin aloittamista analysoimme kontrollinäytteen, jonka totesimme olevan laitteen määrittämässä rajoissa. Kontrolliliuokset ovat näytteidenkaltaisia liuoksia, joiden pitoisuudet tunnetaan (Jaarinen ym. 2005). Aloitimme validoinnin analysoimalla koko näytesarjasta täydellisen verenkuvan kertaalleen. Sarja-analysoinnissa automaattinen näytteesyöttäjä sekoitti näytteet automaattisesti ennen analysointia. Analysaattorin toistettavuutta tutkimme analysoimalla viisi eri näytettä kunkin viisi kertaa peräkkäin manuaalisella näytteesyötöllä. Tällöin sekoitimme näytteet käsin ennen analysointia. Näytteiden analysointi tapahtui yhtenä analysointikertana. Verenkuvatulokset taulukoimme Microsoft Excel-taulukkolaskenta ohjelmalla tarkempaa analysointia varten.

5.3 Tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät

Määrällisiä tuloksia esitetään taulukoin, kuvioin, tunnusluvuin ja tekstinä. Ne havainnollistavat tekstiä ja lisäävät sen ymmärrettävyyttä. Tietojen vertailu on myös kuvioiden avulla huomattavan havainnollistavaa. Taulukko soveltuu esitystavaksi hyvin silloin, kun esitettävää numerotietoa on paljon ja se halutaan esittää yksityiskohtaisesti. Kuvioita käytetään kun halutaan nopeasti luettavaa tietoa tai havainnollistaa tiedon ominaisuuksia. Yleinen tapa analysoida aineistoa ja esittää tuloksia on taulukointi. Tutkimuksen tekstin ja taulukon informaation tulee tukea ja havainnollistaa toisiaan. (Vilkka 2007, 138.)

Kahden muuttujan välisestä riippuvuudesta parhaan kuvan saa havaituista arvoista piirretyn sirontakuvion avulla. Sirontakuviota voidaan kutsua myös korrelaatiogrammiksi, pisteparveksi tai hajontakuvioksi. Sirontakuviossa jokainen piste vastaa yhtä havaintoparia. Muuttujien välillä on lineaarista riippuvuutta, jos sirontakuvion pisteet sijoittuvat edes löyhästi samalle kuvitteelliselle viivalle. Kuvion muoto kertoo

riippuvuuden voimakkuudesta. Ääritapauksissa riippuvuus on determinististä eli täydellistä, kun kaikki pisteet ovat samalla suoralla. Sirontakuvion asento kertoo riippuvuuden laadusta. Oikealle ylös nousevan kuvion riippuvuus on positiivista, eli x-arvojen kasvaessa myös y-arvot kasvavat. Kun sirontakuvio laskee oikealle alaspäin, on riippuvuus negatiivista, eli x-arvojen kasvaessa y-arvot pienenevät. Kvantitatiiviset tutkimusmenetelmien mittaussuunnitelmat voivat vaihdella ilmiön luonteen mukaan. Mikä tahansa yksikkö käy, jonka avulla saadaan tarkastelun alaisena oleva ilmiö numeerisesti ilmaistua. (Kärkkäinen & Högmänder 2008, 53; Erätuuli ym.1994, 11.)

Korrelaatiokerroin perustuu keskiarvoihin, jolloin se on herkkä poikkeaville havainnoille. Korrelaatiokertoimen tilastollinen merkitsevyys riippuu kertoimen arvosta ja otoskoosta. Korrelaatiokertoimen avulla voidaan kuvata eri muuttujien riippuvuutta toisistaan. Kertoimella saadaan tietoa, jonka avulla voidaan päätellä, vaikuttavatko tietyt havaitut asiat toisiinsa. Korrelaatio tarkoittaa suoraa, lineaarista yhteyttä kahden muuttujan välillä. Korrelaatio merkitsee siis riippuvuussuhdetta, jolloin korrelaatiokerroin merkitsee kahden muuttujan välistä riippuvuutta numeroarvona ilmaistuna. Korrelaatio voi olla positiivinen tai negatiivinen ja arvo voi olla -1 ja +1 väliltä. Mitä lähempänä nollaa arvo on, sitä heikompi on muuttujien välinen riippuvuus. Positiivinen korrelaatio merkitsee molempien muuttujien kasvavan samansuuntaisesti, negatiivinen korrelaatio vuorostaan tarkoittaa, että arvot vähenevät samansuuntaisesti. Useimmiten käytetty korrelaatiokerroin on Pearsonin korrelaatiokerroin. (Kärkkäinen ym. 2008, 56; Metsämuuronen 2000a, 56; Karjalainen 2004, 106-118; Vilka 2007, 120, 130.)

Korrelaatiokertoimen tilastollinen merkitys riippuu tapausten eli tutkittavien yksiköiden määrästä siten, että mitä vähemmän tutkittavia yksiköitä on, sitä suurempi korrelaatiokertoimen numeerinen arvo tulee olla, jotta se olisi tilastollisesti merkittävä. Luotettavan korrelaatiokertoimen saavuttamiseksi otoskoon tulisi olla riittävän laaja, mutta tulosten poikkeavuutta toisistaan ei voi kumota otoskokoa kasvattamalla. Suurikaan korrelaatio ei välttämättä ole tilastollisesti merkitsevä, mikäli otoskoko on pieni. Ja edelleen; vaikka korrelaatio olisikin tilastollisesti merkitsevä, se ei välttämättä tutkimuksen kannalta ole merkittävä. (Erätuuli ym. 1994; Kärkkäinen ym. 2008, 53, 104; Metsämuuronen 2000b, 44.) Ominnäytetyössämme tutkittavia yksiköitä on suhteellisen vähän, 26 kpl, mikä on huomioitava tuloksia tulkittaessa.

Jos muuttujien arvot keskittyvät koordinaatistossa suunnilleen jonkin suoran ympärille, voidaan riippuvuuden sanoa olevan lineaarista. Riippuvuuden ollessa kahden

muuttujan välillä lineaarista, havaintopareja kuvaava malli voidaan esittää yhtälönä: $y = a + bx$, jonka kuvaaja on koordinaatistossa suora. Tätä suoraa kutsutaan regressiosuoraksi. Yhtälössä x on selittävä muuttuja ja y selitettävä muuttuja. X :n kerroin b ilmoittaa, kuinka paljon y :n arvo muuttuu, kun x :n arvo muuttuu yhden yksikön. Regressioanalyysin tavoitteena on löytää muuttujien välillä oleva yhteys ja kuvata sitä matemaattisella mallilla. Regressiosuoran selityskerroin R^2 kuvaa, kuinka luotettavina mallin avulla laskettuja ennusteita voidaan pitää. (Karjalainen 2004, 106-118; Holopainen & Pulkkinen 2002, 218.)

Tässä opinnäytetyössä käytettävät tilastolliset menetelmät ovat korrelaatiokerroin ja regression kuvaaminen sirontakuviolla. Sysmex XS-1000i:n toistettavuuden arviointiin käytetään keskiarvon ja keskihajonnan avulla laskettavaa variaatiokerrointa (CV %). Näiden avulla voimme verrata Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n tulosten yhteneväisyyttä. Näillä tilastollisilla menetelmillä voidaan käsitellä myös pienempiä otoskokoja, mikäli otoskoon vaikutus huomioidaan tulosten tulkinnassa (Metsämuuronen 2000b, 44).

5.4 Tutkimuksen luotettavuus

Tutkimuksen tarkoituksena on saada mahdollisimman luotettavaa ja totuudenmukaista tietoa. Luotettavuuden arvioinnissa hyödynnetään validiteettia ja reliabiliteettia. Validiteetilla tarkoitetaan sitä, että mitataan ja tutkitaan oikeita asioita tutkimusongelman kannalta. Mittari on validi, jos se mittaa sitä, mitä sen pitääkin mitata. Reliabiliteetilla tarkoitetaan puolestaan tutkimustulosten pysyvyyttä, eli samojen tulosten saamista toistettaessa tutkimus. Kvantitatiivisessa opinnäytetyössä on aina syytä arvioida työn luotettavuutta. (Kananen 2011, 118.) Tässä opinnäytetyössä tutkimuksen luotettavuutta pyritään arvioimaan kriittisen tarkastelun avulla. Erityisesti pieni otoskoko on huomioitu luotettavuutta tarkasteltaessa.

Tutkijan on oltava koko tutkimusprosessin ajan tarkka ja kriittinen. Virheitä voi syntyä tietoja kerätessä, syötettäessä, käsiteltäessä tai niitä tulkittaessa. Tässä tutkimuksessa virhemahdollisuus tietojen käsittelyssä on mahdollinen, sillä tuloksia käsiteltiin ja taulukoitiin manuaalista. Tutkimuksen tulokset eivät saa riippua tutkijasta. Tutkija ei saa antaa omien poliittisten tai moraalisten vakaumustensa vaikuttaa tutkimusprosessiin. Tutkijan tulisi aina koetella tutkimustulosten luotettavuutta viimeiseen asti. (Heikkilä 2008, 30-31; Mäkinen 2006, 102.)

Tulokset ovat sattumanvaraisia, jos otoskoko on kovin pieni. Luotettavien tulosten saamiseksi tulee varmistaa, että otos edustaa koko tutkittavaa perusjoukkoa. Tutkimuksella ei voida saada tietoa koko perusjoukosta, mikäli tutkitaan vain joitakin siihen kuuluvia ryhmiä. (Heikkilä 2008, 30-31.) Tässä opinnäytetyössä otoskoko, eli näytteiden määrä on melko pieni verrattuna siihen määrään, jota sairaaloiden ja terveyskeskusten laboratoriolaitteiden validoinnissa käytetään. Tämän vuoksi tässä opinnäytetyössä saatuja tuloksia ei voida yleistää.

Hyvä tutkimus on tehokas ja taloudellinen. Tutkimus on taloudellinen, mikäli sen hyöty ja kustannukset ovat oikeassa suhteessa. Opinnäytetyössä hyötyä ei useinkaan voida rahallisesti mitata, mutta tarpeeksi suuri panostus tutkimuksen tekemiseen todennäköisesti maksaa itsensä takaisin arvostettuna työnä. Tutkimusraportissa tulee esittää tutkimuksen kannalta kaikki tärkeät tulokset ja johtopäätökset. Käytetty menetelmä ja epätarkkuusarviot tulee esittää avoimesti ja niiden vaikutus tuloksien yleistettävyyteen pyritään selvittämään. Tutkimuksen tulisi olla myös hyödyllinen ja käytökelpoinen. (Heikkilä 2008, 30-31.) Tutkijan tulisi altistaa saamansa tutkimustulokset tiedeyhteisön tarkasteltavaksi, jotta mahdolliset virheet tulisivat ilmi (Mäkinen 2007, 102). Tämä opinnäytetyö ei aiheuttanut tekijöilleen kustannuksia. Tämän opinnäytetyön raportti on yleisön luettavissa. Työn tulokset esitellään yleisölle avoimessa seminaaritilaisuudessa, jossa tätä opinnäytetyötä kriittisesti arvioimassa ovat myös opponentit.

Tutkijan tulee tiedonhaussa harjoittaa aina lähdekritiikkiä. Lähdekritiikkiä harjoittaessaan huomiota tulisi kiinnittää lähteen aitouteen, riippumattomuuteen, alkuperäisyyteen sekä puolueettomuuteen. Tutkijan tulisi suosia aina ensikäden lähteitä, eli primaarilähteitä, jotka ovat luonteeltaan aidompia ja alkuperäisempiä. Sekundaarilähteet ovat usein monen käden kautta kulkeneita, ja siksi alttiimpia erilaisille vaikutuksille. (Mäkinen 2007, 128.)

Tässä opinnäytetyössä näyttemateriaalina olleet EDTA -verinäytteet olivat ammattitaitoisten ja koulutettujen laboratoriohoitajien ottamia. Preanalyttisten virheiden mahdollisuus on aina mahdollinen, mutta asiantuntijoiden ammattitaidolla tämä riski minimoitiin. Näytteet olivat kaikki otettu mittamerkkiin asti, mikä parantaa näytteiden säilyvyyttä. (Mahlamäki 2003, 268-274). Näytteet eivät myöskään olleet hyytyneitä tai hemolysoituneita, mikä vähensi analyysivirheiden mahdollisuutta.

5.5 Eettisyys

Terveydenhuollon ammattiryhmien eettiset ohjeistukset perustuvat yleisiin arvoihin. Eri ohjeistukset painottavat näitä yleisarvoja hieman eri tavalla. Keskeisinä näissä kaikissa on kuitenkin ihmisarvon ja itsemääräämisoikeuden kunnioittaminen, ihmisen elämän suojeleminen ja terveyden edistäminen. Terveydenhuollon etiikan peruspilareina pidetään hoidon pohjautumista tieteellisesti tutkittuun tietoon, potilaan edun vaatiessa ammattitovereiden konsultoimista, toisten ammattiryhmien kunnioittamista sekä luotamuksellisten tietojen salassapitämistä. Terveydenhuoltoa ohjaavia keskeisiä säännöksiä ovat Suomessa perustuslakiin kirjatut perusoikeudet, laki potilaan asemasta ja oikeuksista, laki terveydenhuollon ammattihenkilöistä, kansanterveyslaki sekä erikoissairaanhoidolaki. (Etene.)

Hyvillä tieteellisillä käytännöillä tarkoitetaan rehellisyyttä, yleistä huolellisuutta sekä tarkkuutta. Kaikessa tutkimustyössä ja sen eri vaiheissa edellytetään eettisesti kestävää toimintaa. Hyviin tieteellisiin käytäntöihin luetaan myös tulosten avoin julkaiseminen ja muiden tutkimusten ja tutkijoiden aikaansaannosten huomioonottaminen asianmukaisella tavalla. Tutkimusryhmän jäsenten asemat ja oikeudet on syytä ilmoittaa, samoin esimerkiksi tulosten omistajuus ja niiden säilytyspaikka. Hyviin tieteellisiin käytäntöihin kuuluu myös esimerkiksi rahoittajien ja muiden sidonnaisuuksien ilmoittaminen. Vastuu hyvien tieteellisten käytäntöjen ylläpitäjänä on pääasiassa tutkijalla itsellään. Tutkijan on luonnolisesti noudatettava voimassa olevia asetuksia ja lainsäädäntöä. (Tutkimuseettinen neuvottelulautakunta 2011.) Tämän opinnäytetyön jokaisessa vaiheessa on pyritty toimimaan mahdollisimman huolellisesti ja tarkasti, ja kaikki mahdolliset virhelähteet on pyritty tuomaan tulosten pohdinnassa rehellisesti esiin. Muita aiheeseen liittyviä tutkimustuloksia on käytetty tutkimusetiikkaa kunnioittaen. Tutkimuksen tulokset julkaistaan avoimesti ja ne altistetaan kriittiselle arvioinnille.

Potilaan ja asiakkaan hyvinvointi sekä hänen oikeuksiensa kunnioittaminen ovat ensisijaisena tavoitteena bioanalyytikon toiminnassa laboratoriotutkimusprosessin kaikissa vaiheissa. Bioanalyttikko sitoutuu noudattamaan työssään ehdotonta salassapitovelvollisuutta. Näytteenottoa ja analysointia varten hankitaan vain niiden suorittamisen kannalta välttämätön potilastieto ja työssä käytetään vain hyväksytyjä menetelytapoja. Bioanalyttikko myös vastaa laboratoriotutkimusten laadusta ja luotavuudesta koko laboratoriotutkimusprosessin ajan. Bioanalyttikko on velvollinen informoimaan tutkimuksen pyytäjää, mikäli havaitsee näytteenotossa, näytteen kulje-

tuksessa, säilytyksessä, käsittelyssä tai analysoinnissa vaatimusten vastaisia seikkoja. Bioanalyytikko käsittelee aina kaikkea biologista näytemateriaalia kunnioittaen näytteen luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia. (Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2011.)

Hyvä tieteellinen käytäntö pitää tärkeänä, että tutkittavat, esimerkiksi ryhmät ja paikkakunnat, pysyvät tuntemattomina. Määrällisessä tutkimuksessa tuloksia ei yksilöidä, joten tunnistamisriskiä ei ole (Vilkkä 2007, 164). Suomen standardoimisliiton mukaan näytteitä voidaan käyttää ilman erikseen pyydettyä lupaa, mikäli näytteitä käsitellään anonyymeina (Suomen Standardoimisliitto 2007, 76). Potilaiden yksityisyyden takaamiseksi näytteistä ja tuloksien tulosteista poistettiin kaikki henkilötiedot. Näytteiden identifioinnissa käytettiin sen sijaan numerointia. Tällä tavalla tuloksia ei voida yhdistää kehenkään yksittäiseen potilaaseen.

6 TUTKIMUKSEN TULOKSET JA TULKINTA

Tarkasteltavat verenkuvaparametrit ovat valkosolujen määrä (fB-Leuk), punasolujen määrä (B-Eryt), hematokriitti (B-Hkr), hemoglobiini (B-Hb), neutrofiilien määrä (B-Neut), eosinofiilien määrä (B-Eos), monosyyttien määrä (B-Mono) sekä lymfosyyttien määrä (B-Ly). Tuloksia analysoidaan korrelaation ja regression avulla. Toistotarkkuutta tutkitaan keskiarvon, keskihajonnan ja CV %:n avulla. CV % eli variaatiokerroin osoittaa, kuinka monta prosenttia havaintoarvojen keskihajonta on havaintoarvojen keskiarvosta (Tilastokeskus 2006). Analyysituloksia verrattiin toisiinsa aluksi silmä-määräisesti, eikä suuria eroavaisuuksia (yli 5 %) tulostasoissa havaittu.

Toistotarkkuutta tutkittaessa rinnakkaisten tulosten välillä CV-%:t olivat kaikissa analysoiduissa näytteissä alle 4 (Liite 2). Yksiselitteisiä virherajoja analyyseille on esitetty kirjallisuudessa vähän. Laboratorioiden tulisi havaita sisäisen laadunohjauksen avulla 90 %:n todennäköisyydellä virhetilanteet, joissa asetetut virherajat ylittyvät. Tuloksia tarkastellessa voidaan pitää lähtökohtana sitä, että rinnakkaisten tulosten poikkeama on alle 10 %. (Sorto, Törmä & Kaihola 1996, 5.)

Seuraavassa taulukossa osoitetaan validoitavan Sysmex XS-1000i –verenkuvanalysaattorin tulosten ja ISLAB:n tulosten korrelointi toisiinsa nähden. Kaikilla mitattavilla parametreilla on korkeat positiiviset korrelaatiot. Kaikkien parametrien korrelaatiokerroin on lähellä arvoa yksi, joka tarkoittaa vahvaa lineaarista riippuvuutta. Pienen tai suuren otoskoon vuoksi korkeaa korrelaatiota ei välttämättä voida pitää tilastollisesti merkitseväenä, mutta tutkimuksen kannalta se voi olla merkittävä (Metsämuuronen 2000 b, 44). Korkein korrelaatiokerroin ($r = 0,997$) on neutrofiileillä (B-Neut) ja heikoin ($r = 0,893$) monosyyteillä (B-Mono).

Taulukko 4. Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n tulosten välinen korrelaatio

Parametri	Pearsonin korrelaatio	N
fB-Leuk	0,993	26
B-Eryt	0,995	26
B-Hb	0,994	26
B-Hkr	0,940	26
B-Neut	0,997	26
B-Ly	0,990	26
B-Mono	0,893	26
B-Eos	0,990	26

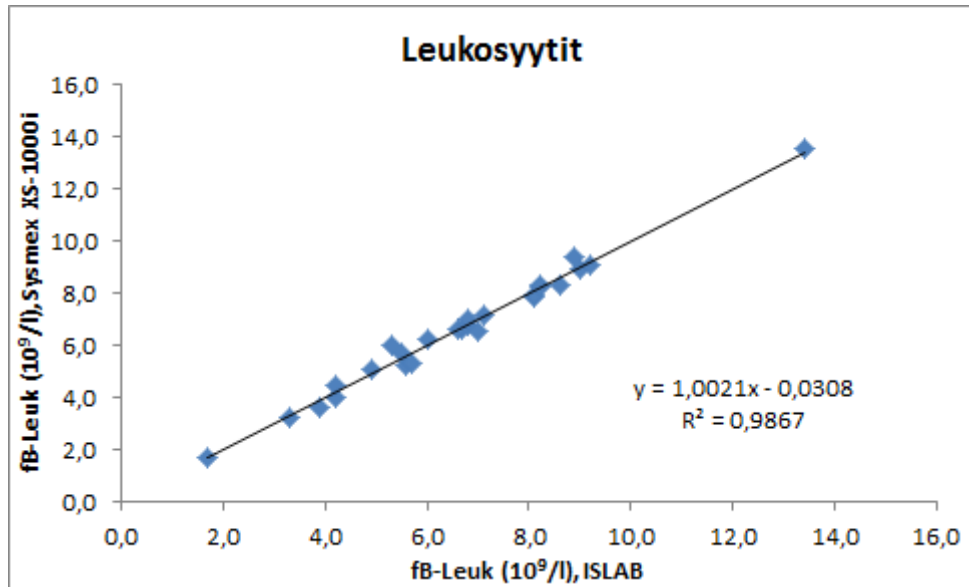
Korrelaation lisäksi tulosten välistä riippuvuussuhdetta voidaan kuvata regressiosuoralla. Regressiokuvaajassa X-akselilla on ISLAB:n tulokset ja Y-akselilla Sysmex XS-1000i –analysaattorin tulokset. Regressiokerroin kuvaa, kuinka tulokset voivat selittää toisiaan.

Regressiosuoran selityskerroin R^2 kertoo, kuinka hyvin tarkasteltavat parametrit selittävät toisiaan. R^2 -arvon ollessa 0,50–1,00 selityskyky on hyvä, arvot 0,25–0,50 kertovat kohtalaisesta selityskyvystä (Kananen 2011, 112). Kaikkien mitattavien parametrien kohdalla regressiokertoimet ovat korkeat, kaikissa tapauksissa yli 0,70, joka kertoo selityskyvyn olevan hyvä (Talukko 5). Matalin regressio on monosyyteillä, $R^2=0,7969$ (Kuvaaja 7), mikä osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisiaan 80-%:isesti. Korkein regressiokerroin on neutrofiileillä, $R^2=0,9932$ (Kuvaaja 5), mikä osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisiaan 99-%:isesti. Regressiosuorat ovat kaikkien parametrien kohdalla lineaarisesti ylöspäin nousevia, mikä ilmaisee tulosten välistä positiivista yhteyttä. Tällöin ISLAB:n analyysitulosten noustessa myös Sysmex XS-1000i:n analyysitulokset kohoavat.

Taulukko 5. Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n tulosten välinen regressio

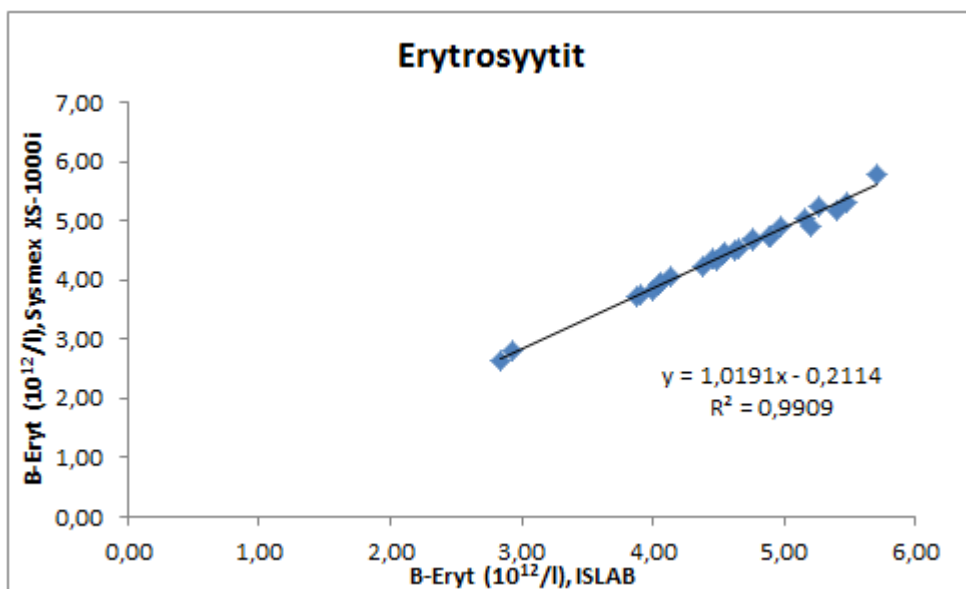
Parametri	Regressiokerroin, R^2	N
Leukosyytit	0,9867	26
Erytrosyytit	0,9909	26
Hemoglobiini	0,9880	26
Hematokriitti	0,8843	26
Neutrofiilit	0,9932	26
Lymfosyytit	0,9809	26
Monosyytit	0,7969	26
Eosinofiilit	0,9806	26

Leukosyyttien regressiosuora (Kuvio 1) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,9867 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 98,67 %.



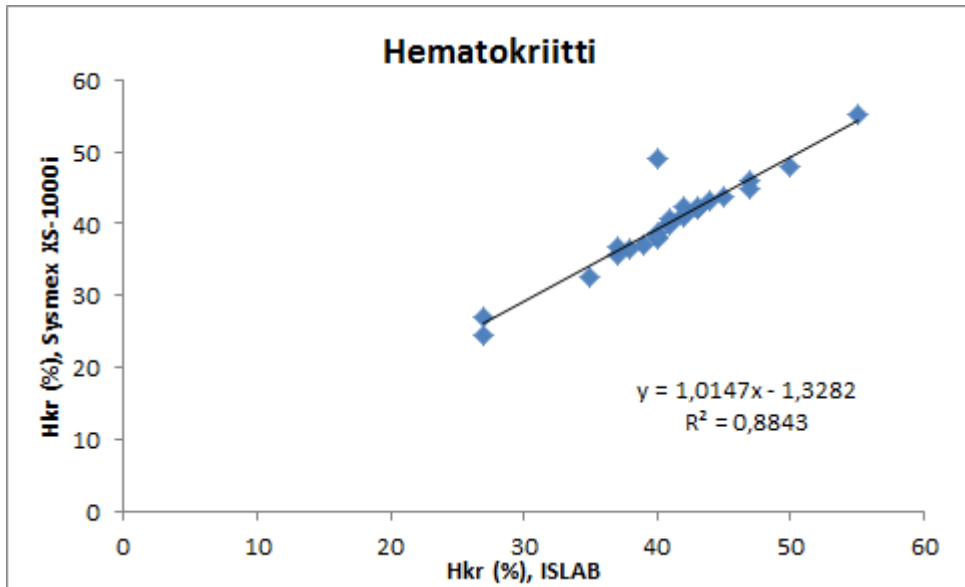
Kuvio 1. Leukosyyttien regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Erytrosyyttien regressiosuora (Kuvio 2) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,9909 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 99,09 %.



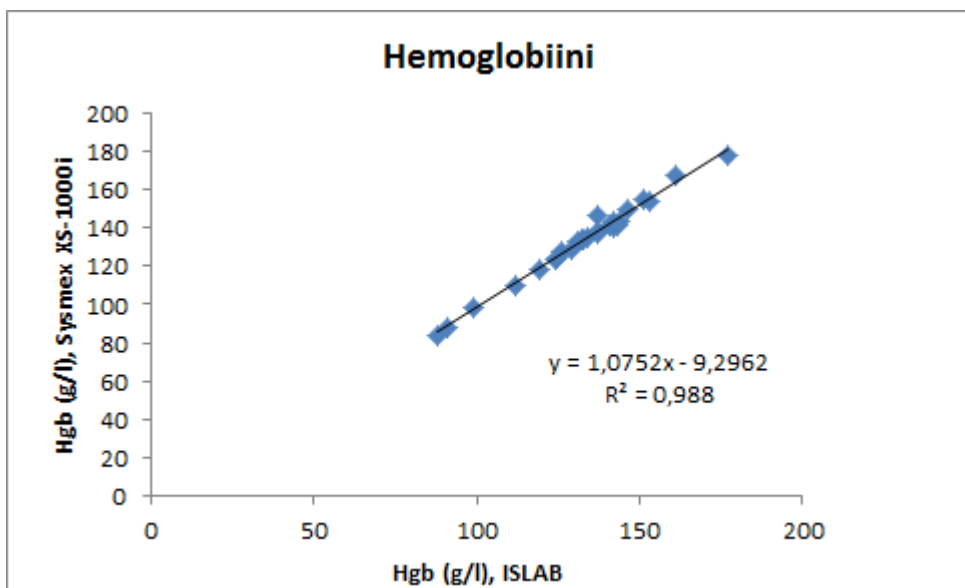
Kuvio 2. Erytrosyyttien regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Hematokriitin regressiosuora (Kuvio 3) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,8843 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 88,43 %.



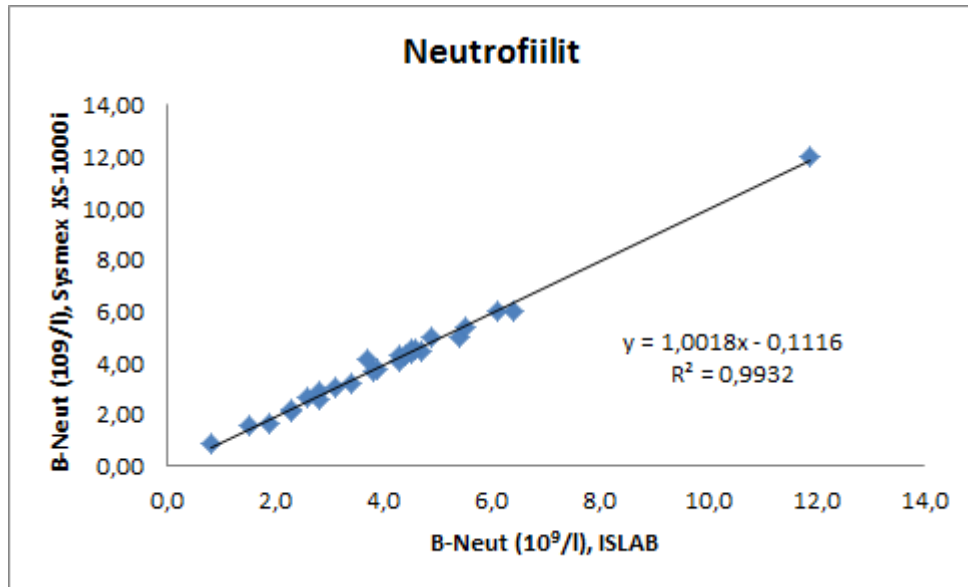
Kuvio 3. Hematokriitin regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Hemoglobiinin regressiosuora (Kuvio 4) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,988 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 98,8 %.



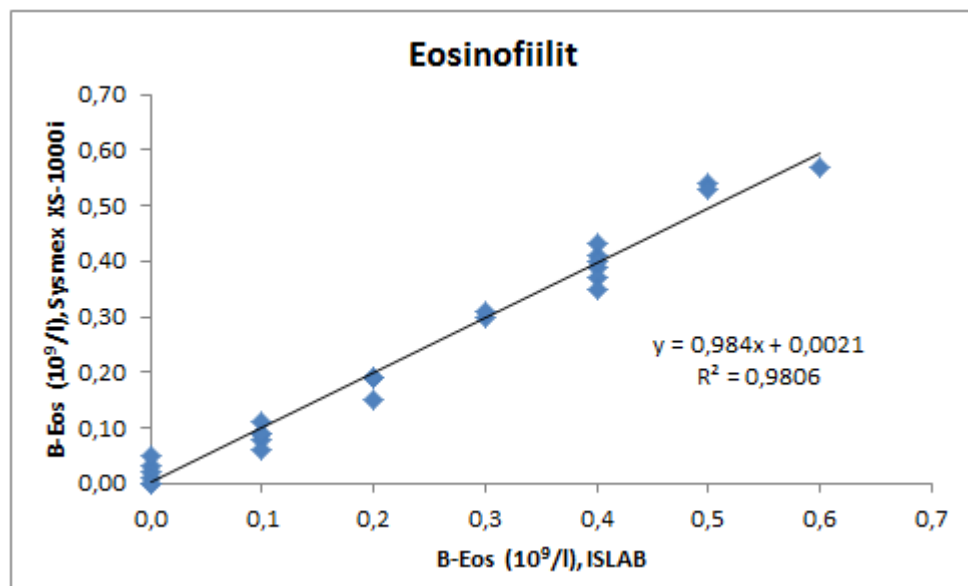
Kuvio 4. Hemoglobiinin regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Neutrofiilien regressiosuora (Kuvio 5) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,9932 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 99,32 %.



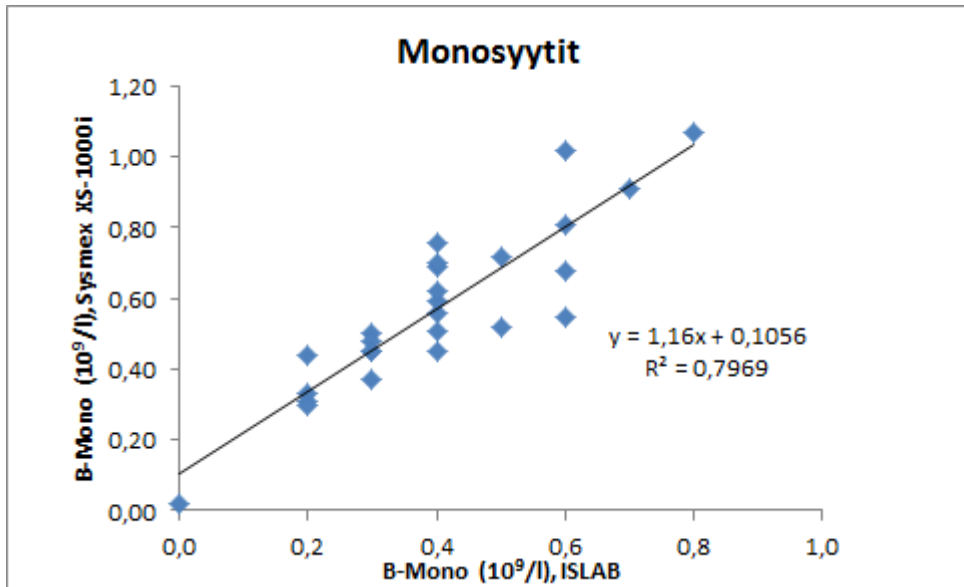
Kuvio 5. Neutrofiilien regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Eosinofiilien regressiosuora (Kuvio 6) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,9806 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 98,06 %.



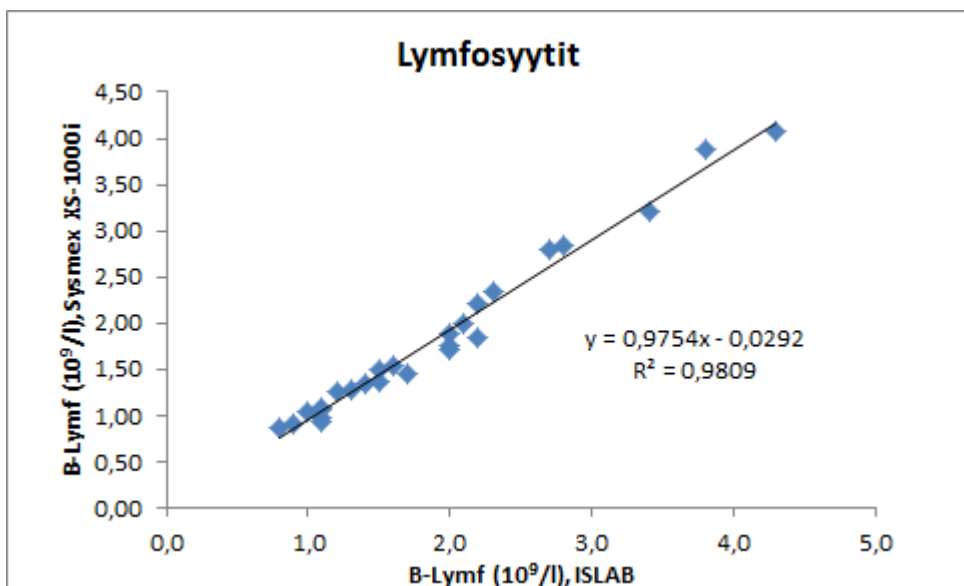
Kuvio 6. Eosinofiilien regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Monosyyttien regressiosuora (Kuvio 7) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,7969 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 79,69 %.



Kuvio 7. Monosyyttien regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Lymfosyyttien regressiosuora (Kuvio 8) on lineaarisesti nouseva, eli analysoiduilla tuloksilla on positiivinen yhteys. Regressiokerroin 0,9809 osoittaa voimakasta yhteyttä tulosten välillä. Kertoimen perusteella tulokset selittävät toisiaan 98,09 %.



Kuvio 8. Lymfosyyttien regressio Sysmex XS-1000i:n ja ISLAB:n verenkuvatulosten välillä

Kaikilla tutkittavilla parametreilla korrelaatiokertoimet ovat lähellä arvoa +1, mikä osoittaa vahvaa tulosten välistä lineaarista ja positiivista riippuvuutta. Regressiokerroimien avulla tutkittiin parametrien selityskykyä toisiinsa nähden. Kaikissa tapauksis-

sa kertoimet ovat yli 0,70, mikä kertoo tulosten hyvästä selityskyvystä. Suurimmassa osassa tapauksista kertoimien arvot ovat lähellä arvoa 1, eli tulosten selityskyky on lähes 100 %. Näin ollen analyysitulokset selittävät toisiaan erittäin hyvin. Tämän perusteella Sysmex XS-1000i:n analyysituloksia voidaan pitää tosiarvoina ISLAB:n tuloksiin nähden, joita tässä opinnäytetyössä on käytetty referenssituloksina. Tästä opinnäytetyöstä saatujen tulosten perusteella ISLAB:n ja Sysmex XS-1000i:n analyysitulokset korreloivat keskenään siis vahvasti.

Sysmex XS-1000i:n toistotarkkuutta tutkittiin toistetusti analysoitujen yksittäisten näytteiden keskiarvojen ja -hajontojen avulla lasketun CV %:n kautta. CV %:t olivat kaikissa tutkituissa tapauksissa alle 4, mikä osoittaa analysaattorin toistettavuuden olevan hyvä.

7 POHDINTA

Tutkimuskysymyksenä oli, miten ISLAB:n ja Sysmex XS-1000i:n analyysitulokset korreloivat keskenään. Tutkimuskysymyksen kautta pohdimme laitteen soveltuvuutta käyttötarkoitukseensa. Tämän opinnäytetyön tavoite oli selvittää ja saada tietoa, soveltuuko Sysmex XS1000i –verenkuva-analysaattori käyttötarkoitukseensa. Tarkoituksena oli validoida analysaattori ja verrata tuloksia vertailulaboratoriona toimivan ISLAB:n kliinisen hematologian laboratorion analyysitulosten kanssa. Tutkimuksen toimeksiantajana toimi Savonia-ammattikorkeakoulu ja validointi suoritettiin koulun tiloissa. Käytetyt validointiparametrit olivat toistettavuus ja lineaarisuus, jotka olivat mahdollisia määrittää pienen otoskoon, tiukan aikataulun ja rajallisten resurssien puitteissa. Näiden parametrien avulla saimme riittävän tiedon laitteen soveltuvuudesta käyttötarkoitukseensa.

Tämän opinnäytetyön validointitulosten perusteella Sysmex XS-1000i:n analyysitulokset ovat luotettavia ja toistettavia. Tämä mahdollistaa laadukkaan laboratorioanalytiikan tuottamisen jo opintoihin kuuluvissa käytännön harjoitteissa, mikä puolestaan tukee opiskelijoiden laatuosaamista. Tällöin Sysmex XS-1000i –verenkuva-analysaattorin voidaan todeta soveltuvan käyttötarkoitukseensa, eli bioanalyttikko-opiskelijoiden kliiniseen opetukseen.

Tutkimuksen otoskoko oli kohtuullisen pieni, 26 näytettä. Pieni otoskoko voi vaikuttaa tutkimustulosten luotettavuuteen, sillä luotettavan korrelaatiokertoimen saavuttamiseksi tulisi otoskoon olla riittävän suuri (Metsämuuronen 2000b, 44). Pienen otoskoon vuoksi tämän tutkimuksen tuloksia ei voida yleistää, mutta ne palvelevat Savonia-ammattikorkeakoulun opetustoimintaa. Tämän opinnäytetyön tilastolliset tulokset ovat pienen otoskoonsa vuoksi suuntaa antavia, mutta riittäviä antamaan vastauksen tutkimuskysymykseen.

Valmiiksi määritellyjä validointirajoja ei ole saatavilla, joilla validointi voidaan hyväksyä. Validointiparametreina toimineista toistettavuudesta ja lineaarisuudesta saadut tulokset olivat kuitenkin hyvin yksiselitteisiä, jolloin niistä voitiin todeta tulosten korreloivan vahvasti keskenään.

Validointi opinnäytetyön aiheena oli selkeä ja helposti sisäistettävä. Tietoa keskeisistä käsitteistä oli vaivatonta löytää. Tiedon suuren määrän vuoksi haasteena koimme sen rajaamisen. Käytännön osuus vaati tarkan suunnittelun, jonka jälkeen validoinnin

toteutus oli yksinkertainen. Tulosten tilastollisia menetelmiä jouduttiin pienen otoskoon vuoksi harkitsemaan huolellisesti, sillä luotettava tilastollinen analyysi vaatii tarpeeksi laajan aineiston, jotta poimittu otos olisi koko perusjoukkoa edustava (Holopainen ym. 2002, 27). Päädyimme määrittämään tuloksista korrelaatio- ja regressiokertoimet sekä regressiosuorat, sillä arvioimme näiden tilastollisten analyysimenetelmien olevan riittäviä osoittamaan laitteen sopivuuden käyttötarkoitukseensa. Tätä opinnäytetyötä on mahdollista hyödyntää esimerkiksi hematologian opetuskäytössä analysaattorin käyttöharjoituksissa. Tätä opinnäytetyötä on myös mahdollista hyödyntää tulevaisuudessa kehitys- ja opinnäytetöissä. Tämän opinnäytetyön pohjalta jatkotutkimusmahdollisuuksina voimme nähdä laajemman, kaikki validointi- ja verenkuvaparametrit kattavan validoinnin, Sysmex XS-1000i:n käytettävyyden arvioinnin sekä esimerkiksi perehdytysohjeen laatimisen.

Tämän opinnäytetyön avulla syvensimme ammatillista laatuosaamistamme erityisesti validoinnin osalta. Opinnäytetyö auttoi meitä sisäistämään validoinnin osana laboratorion laadunhallintaa käytännön tasolla. Opimme käyttämään lähdekritiikkiä ja harjaannuimme tiedonhankinnassa. Tutkimustyötä tehdessämme opimme asettamaan itsellemme selkeät tavoitteet laadullisesti ja aikataulullisesti ja pysymään niissä. Tutkimusprosessi selkeytyi meille pääpiirteittäin.

LÄHTEET

Bjålie, J., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, Ø. & Toverud, K. 1998. *Ihminen - Fysiologia ja anatomia*. Helsinki: WSOY.

Etene. Terveysthuollon yhteinen arvopohja, yhteiset tavoitteet ja periaatteet- ETE-NE- julkaisuja 1. Valtakunnallinen terveydenhuollon eettinen neuvottelukunta. [viitattu 26.9.2012]. Saatavissa: http://www.etene.fi/c/document_library/get_file?folderId=17185&name=DLFE-543.pdf.

Erätuuli, M., Leino, J. & Yli-Luoma, P. 1994. *Kvantitatiiviset analyysimenetelmät ihmistieteissä*. Helsinki: Kirjayhtymä Oy.

Hallanvuo, S. 2010. Validointi - Mikrobiologiset menetelmät. Evira. Helsinki. [viitattu 21.2.2012]. Saatavissa: http://www.evira.fi/files/attachments/fi/evira/esittely_toiminta_valvonta/laboratoriotointa/koulutus/saija_hallanvuo_validointialustus_13102010.pdf.

Hammerling, J. 2011. A Review of Medical Errors in Laboratory Diagnostics and Where We Are Today. *LabMedicine* 43 (2), 41-43.

Hekkilä, T. 2008. *Tilastollinen tutkimus*. Helsinki: Edita.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 1997. *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Tammi.

Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E. & Moss, P.A.H. 2001. *Essential haematology*. Oxford: Blackwell Science.

Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2002. *Tilastolliset menetelmät*. Helsinki: WSOY.

International Organization for Standardization. 2011. Draft International Standard ISO/DIS 15189: Medical laboratories — Particular requirements for quality and competence. [viitattu 28.9.2012]. Saatavissa: http://download.bion.com.cn/view/upload/201203/17093553_2270.pdf

ISLAB-ohjekirja. B-Täydellinen verenkuvaa, B-TVK. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. Kuopio. [viitattu 6.9.2012]. Saatavissa: <https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp>.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. *Laboratorion analyysitekniikka*. Helsinki: Edita.

Jalasola, K. 2003. Tutkimusmenetelmät. Haaga-Helia ammattikorkeakoulu. Helsinki. [viitattu 6.9.2012]. Saatavissa: <http://myy.helia.fi/~lagal/mon56d/menetelmat.pdf>.

Kananen, J. 2011. *Kvantti- Kvantitatiivisen opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas*. Jyväskylä: Jyväskylän Ammattikorkeakoulun Julkaisuja -sarja.

Karjalainen, L. 2004. *Tilastomatematiikka*. Kahdeksas, uudistettu painos. Ristiina: Pii-Kirjat.

Koski, T., Pelliniemi, T.-T. & Savolainen, E.-R. 2010. Hematologian analysaattorit. Teoksessa Niemelä O. ja Pulkki K. (toim.) *Laboratoriolääketiede- Kliininen kemia ja hematologia*. Kolmas, uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus OY, 79-92.

Krause, J.R. 2002. Quality assurance. Teoksessa Rodak, B.F. (toim.) *Hematology - Clinical Principles and Applications*. Second Edition. Philadelphia: W.B Saunders Company, 41-51.

Kuusela, M. 2009. *Sysmex XS-1000i mittausperiaatteet*. Roche Diagnostics Oy.

Kärkkäinen, S. & Högmänder, H. 2008. Tilastomenetelmien peruskurssi. Jyväskylän yliopisto. Matematiikan ja tilastotieteen laitos.

Laitinen, M. 2003. Analytiikan ja vierianalytiikan virhelähteet. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 32-34.

Leclair, S. 2002. Quantitative Alterations of Leukocytes. Teoksessa Rodak, B.F. (toim.) *Hematology - Clinical Principles and Application*. Second Edition. Philadelphia: W.B Saunders Company, 377-381.

Lehtonen, P., Sihvonen, M. 2004. *Laboratorioalan analyttinen kemia*. Helsinki: Opetushallitus.

Leppiniemi, J. 2006. Virtaussytometria. Laboratorioalan liitto. [viitattu 1.3.2012]. Saatavissa: <http://www.laborantti.net/virtaussytometria.htm>.

Linko, S. 2004. Kontrollien merkitys käytännön laboratoriotyössä. *Moodi* 28 (2), 60-62.

Mahlamäki, E. 2003. Verenkuva tutkimukset. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 268-283.

Mahlamäki, E. 2005. Diffi - mihin menossa? *Moodi* 29 (1), 43-44.

Matinlauri, I. & Vilpo, J. 2010. Numeerinen verenkuv. Teoksessa Niemelä, O. ja Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia*. Kolmas painos. Helsinki: Kandidaattikustannus OY, 247-254.

Metsämuuronen, J. 2000a. *SPSS aloittelevan tutkijan käytössä*. Helsinki: International Methelp Ky.

Metsämuuronen, J. 2000b. *Tilastollisen päättelyn perusteet*. Helsinki: International Methelp Ky.

Mikes. 2005. Kemian metrologian opas [verkkajulkaisu]. Mittatekniikan keskus [viitattu 28.8.2012]. Saatavissa: www.mikes.fi/documents/upload/j6_05_b5_nettiin.pdf.

Mullins, C.A. 2002. Specimen collection. Teoksessa Rodak, B. (toim.) *Hematology - Clinical Principles and Applications*. Second Edition. Philadelphia: W.B Saunders Company, 17-30.

Mäkinen, O. 2007. *Tutkimusetiikan ABC*. Helsinki: Tammi.

Opetusministeriö 2006. Ammattikorkeakoulusta terveydenhuoltoon. Koulutuksesta valmistuvien ammatillinen osaaminen, keskeiset opinnot ja vähimmäisopintopisteet. Opetusministeriön työryhmämuistioita ja selvityksiä. [viitattu 11.10.2012]. Saatavissa: http://www.minedu.fi/OPM/Julkaisut/2006/Ammattikorkeakoulusta_terveydenhuoltoon.html

Pelliniemi, T-T. & Tienhaara, A. 2007. Leukemioiden immunofenotyyppitys. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Kolmas, uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 134-144.

Penttilä, I. 2003. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 35-39.

Rajamäki, A. 2007. Hematologisten laboratoriotutkimusten laatu. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Kolmas, uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 145-150.

Savolainen, E-R. 2007. Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Kolmas, uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 85-99.

Savonia-ammattikorkeakoulu 2011. Opetussuunnitelma. [viitattu 11.10.2012]. Saatavissa: <http://portal.savonia.fi/amk/opiskelijalle/opetussuunnitelmat/sosiaali-ja-terveysala-kuopio?konr=2478&yks=KS&toim=OT>

Siitonen, S. & Pelliniemi, T-T. 2005. Virtausytometria hematologian laboratoriossa: nelivärianalyysistä kuusivärianalyysiin. *Moodi* 29 (6), 206-209.

Siitonen, S. 2012. Leukosyyttien erittelylaskenta - valkosolujen kummajaisia. *Moodi* 36 (4), 158-163.

Siitonen, T. & Koistinen, P. 2007. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Kolmas, uudistettu painos. Helsinki: Duodecim, 16-31.

Sinisalo, M. & Koski, T. 2010. Mitä kertoo verenkuva? *Lääkärilehti* 65 (36), 2857-2859.

Skubitz, K.M. 1999. Neutrophilic leukocytes. Teoksessa Lee, G.R., Foerster, J., Lukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P. & Rodgers, G.M. (toim.) *Wintrobe's Clinical Hematology Volume 1*. 10th Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 301-350.

Sorto, A., Törmä, A. & Kaihola, H-L. 1996. Laadunvarmistus kliinisessä laboratorioissa. Sisäisen laadunohjauksen periaatteet. *Moodi* 20 (4), 3-22.

Sullivan, E. 2006. Hematology Analyzer: From Workhorse to Thoroughbred. *Labmedicine* 37 (5), 273-278.

Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2011. Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. [viitattu 26.9.2012]. Saatavissa: <https://bioanalytikkoliitto-fi.directo.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+%281%29.pdf>.

Suomen Bioanalytikkoliitto Ry 2012. Bioanalytikon ammatti. [viitattu 28.9.2012]. Saatavissa: http://www.bioanalytikkoliitto.fi/bioanalytikon_ammatti/.

Suomen Standardoimisliitto 2007. SFS-EN ISO 15189.46. 50.52.76. [viitattu 8.10.2012]. Saatavissa: <http://sales.sfs.fi/sfs/servlets/DownloadServlet?action=getFile&forContract=10864&productId=189412>

Sysmex guide 2009. XS-SERIES Clinical Case Report. Kobe: Sysmex Corporation.

THL 2005. Menetelmät, menetelmien validointi ja mittausten jäljitettävyyys. Terveiden ja Hyvinvoinnin laitos. Helsinki. [viitattu 21.2.2012]. Saatavissa: www.ktl.fi/portal/suomi/julkaisut/julkaisusarjat/kansanterveyslaitoksen_julkaisuja_b/hyva_tutkimustapa_ktl_ssa/b-osa__eraiden_tutkimustyyppien_erityispiirteet/14_kliinisten_naytetutkimuksien_erityispiirteet/14.3_luotettavalle_laboratoriotoiminnalle_asetettavat_vaatimukset/14.3.4_menetelmat,_menetelmien_validointi_ja_mittausten_jaljitettyvyys/.

Tilastokeskus 2006. Hajontaluvut- variaatiokerroin. [viitattu 24.10.2012]. Saatavissa: www.stat.fi/tup/verkkokoulu/data/tt/02/01/index.html

TKK 2006. Mittausepävarmuus. Mikes-Aalto Mittaustekniikka. Helsinki. [viitattu 3.9.2012]. Saatavissa: http://metrology.tkk.fi/courses/S-108.1010/Luento7_2006.pdf.

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet - opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.

Turgeon, M.L. 1993. Clinical hematology - Theory and procedures. Second Edition. Boston /Toronto/London: Little, Brown and Company.

Tutkimuseettinen neuvottelulautakunta 2011. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitleminen. Opetusmateriaali, tutkimusetiikkaa. PowerPoint-esitys. [viitattu 26.9.2012]. Saatavissa: <http://www.tenk.fi/julkaisut/index.html>

Vanharanta, R. 2010. Verisolulaskimen vahvuuksia ja sudenkuoppia. *Moodi* 34 (4), 225-230.

Vilkkä, H. 2007. *Tutki ja Mittaa - Määrällisen tutkimuksen perusteet*. Helsinki: Tammi.

Vilpo, J. 2010. Versisolujen rakenne ja funktiot. Teoksessa Vilpo, J. (toim.) *Ilmari Palvan veritaudit*. Kolmas, uudistettu painos. Helsinki: Medivil Oy, 21-27.

Wians, F.H. 2009. Clinical Laboratory Tests: Which, Why, and What Do The Results Mean? *LabMedicine* 40 (2), 105-113.

Yhtyneet Medix Laboratoriot 2012. Laboratoriokäsikirja – Täydellinen verenkuvaa.

[viitattu 25.10.2012]. Saatavissa:

<http://www.yml.fi/do.xsp?viewType=productview&objectType=product&directoryType=&productOID=378>.

Validointisuunnitelma

Liite 1

Validointisuunnitelma

Sysmex XS-1000i

- Tarkoituksena varmentaa luotettavat mittaustulokset ja siten todeta Sysmex XS1000i:n soveltuvuus opetuskäyttöön
- Analysaattoria käytetään opetustarkoituksessa, joten hieman suppeampi validointi on riittävää
- Vertailulaboratoriona toimii ISLAB:n hematologian laboratorio
- Näyttemateriaali hankitaan ISLAB:lta, 20-30 kokoverinäytettä (EDTA)
- Näytteistä analysoidaan B-TVK
- Koko sarja ajetaan kerran oppilaitoksen Sysmex XS-1000i –analysaattorilla
- Toistettavuutta testataan ajamalla viisi yksittäistä näytettä viidestä kymmeneen kerran peräkkäin manuaaliajona
- Näytteet ajetaan näytteenottopäivänä, koska näytteet ovat analysointikelpoisia huoneenlämmössä 12 tuntia
- Tuloksista tarkastellaan toistettavuutta (keskiarvo, keskihajonta ja CV %), korrelaatiota ja regressiota
- Tuloksista laaditaan taulukoita ja kuvaajia tulkinnan helpottamiseksi

Toistettavuustulokset

Liite 2

Toistettavuus (Sysmex XS 1000i)							
näyte nro 26	wbc 10 ⁹ /l	rbc 10 ¹² /l	hgb g/l	tromb 10 ⁹ /l	neutr 10 ⁹ /l	hkr %	mcv fl
toisto 1	5,4	4,65	140	257	2,5	41	88
toisto 2	5,4	4,7	140	258	2,6	41	88
toisto 3	5,5	4,62	139	253	2,7	41	88
toisto 4	5,4	4,66	139	255	2,6	41	88
toisto 5	5,4	4,65	140	256	2,6	41	88
k.a	5,4	4,656	139,6	255,8	2,6	41	88
keskihajonta	0,0640	0,0258	0,4899	1,7205	0,0463	0,1897	0,1166
CV %	1,1826	0,5534	0,3509	0,6726	1,7919	0,4639	0,1327

Toistettavuus (Sysmex XS 1000i)							
näyte nro 17	wbc 10 ⁹ /l	rbc 10 ¹² /l	hgb g/l	tromb 10 ⁹ /l	neutr 10 ⁹ /l	hkr %	mcv fl
toisto 1	8,2	2,82	88	91	5,9	27	95
toisto 2	8,5	2,78	87	87	6,1	27	95
toisto 3	8,2	2,78	88	91	6,0	27	95
toisto 4	8,5	2,78	88	87	6,1	27	95
toisto 5	8,7	2,81	88	94	6,3	27	95
k.a	8,4180	2,7940	87,8000	90,0000	6,0900	26,6000	95,1800
keskihajonta	0,1938	0,0174	0,4000	2,6833	0,1348	0,1265	0,1470
CV %	2,3027	0,6240	0,4556	2,9814	2,2128	0,4755	0,1544

Toistettavuus (Sysmex XS 1000i)							
näyte nro 23	wbc 10 ⁹ /l	rbc 10 ¹² /l	hgb g/l	tromb 10 ⁹ /l	neutr 10 ⁹ /l	hkr %	mcv fl
toisto 1	8,1	4	111	282	4,3	37	93
toisto 2	8,5	3,99	111	277	4,4	37	93
toisto 3	8,0	3,98	111	284	4,2	37	93
toisto 4	8,0	4	111	296	4,2	37	93
toisto 5	8,1	3,99	111	285	4,1	37	93
k.a	8,1	3,992	111	284,8	4,2	37	93
keskihajonta	0,1760	0,0075	0,0000	6,2418	0,1048	0,0748	0,1200
CV %	2,1680	0,1875	0,0000	2,1916	2,4683	0,2013	0,1288

Toistettavuus (Sysmex XS 1000i)							
näyte nro 16	wbc 10 ⁹ /l	rbc 10 ¹² /l	hgb g/l	tromb 10 ⁹ /l	neutr 10 ⁹ /l	hkr %	mcv fl
toisto 1	6,9	5,73	178	178	4,9	55	96
toisto 2	6,9	5,74	177	176	4,9	55	96
toisto 3	6,9	5,66	177	179	4,9	54	96
toisto 4	6,9	5,74	177	190	4,9	55	96
toisto 5	6,9	5,78	177	189	4,9	55	96
k.a	6,8840	5,7300	177,2000	182,4000	4,8740	54,9200	95,9800
keskihajonta	0,0280	0,0390	0,4000	5,8856	0,0150	0,4792	0,0980
CV %	0,4067	0,6804	0,2257	3,2267	0,3071	0,8725	0,1021

Toistettavuus (Sysmex XS 1000i)							
näyte nro 3	wbc 10 ⁹ /l	rbc 10 ¹² /l	hgb g/l	tromb 10 ⁹ /l	neutr 10 ⁹ /l	hkr %	mcv fl
toisto 1	6,6	4,84	149	211	3,6	42	88
toisto 2	6,6	4,86	149	207	3,7	43	87
toisto 3	6,6	4,87	150	212	3,7	43	88
toisto 4	6,7	4,88	149	208	3,8	43	87
toisto 5	6,8	4,89	149	211	3,7	43	88
k.a	6,6540	4,8680	149,2000	209,8000	3,6980	42,5800	87,4600
keskihajonta	0,0618	0,0172	0,4000	1,9391	0,0407	0,1327	0,1020
CV %	0,9293	0,3534	0,2681	0,9242	1,1004	0,3116	0,1166